



This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

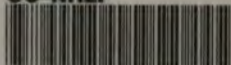
- + *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.
- + *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.
- + *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.
- + *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at <http://books.google.com/>

QD
431
S4

UC-NRLF



\$B 35 032

Die
Krystallisation von Eiweissstoffen
und ihre
Bedeutung für die Eiweisschemie.

Von

Dr. Fr. N. Schulz,

a. o. Professor an der Universität Jena.



YC 21583

Jena,

Verlag von Gustav Fischer.

1901.

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF CALIFORNIA.

Class

Die
Krystallisation von Eiweissstoffen
und ihre
Bedeutung für die Eiweisschemie.

Von

Dr. Fr. N. Schulz,
a. o. Professor an der ^{II}Universität Jena.



Jena,

Verlag von Gustav Fischer.
1901.

77431
SK

GENERAL

Uebersetzungsrecht vorbehalten.

I n h a l t.

	Seite
Einleitung	1
A. Natürlich vorkommende pflanzliche Eiweisskrystalle	2
B. Natürlich vorgebildete thierische Eiweisskrystalle	6
C. Künstlich durch Umkrystallisiren natürlich vorgebildeter erzeugte Krystalle	8
D. Künstliche Krystallisation nicht krystallinisch vorgebildeter Eiweissstoffe	10
I. Krystallisirtes Eialbumin	10
II. Krystallisirtes Serumalbumin	13
III. Verschiedene gelegentliche Befunde über Krystallisation ursprünglich gelöster Eiweissstoffe	15
a) Heteroalbumose des Harns. b) Laktalbumin. c) Fibrin. d) Casein. e) Propepton. f) Albumosen. g) Hyalin. h) Säure aus Albumose.	
IV. Blutfarbstoff und Verwandtes	18
a) Gefärbte pflanzliche Eiweisskrystalle.	
b) Hämoglobinkrystalle.	
b 1. Vorkommen. b 2. Historisches. b 3. Darstellungsmethoden. b 4. Natur der Hämoglobinkrystalle.	
c) Insektenblutkrystalle.	
E. Krystallographische Angaben über Eiweisskrystalle	34
F. Bedeutung der Eiweisskrystalle für die Eiweisschemie	36
G. Bedeutung der Krystallisationsfähigkeit	40



Bei dem grossen Interesse, welches die Eiweisskörper, als Träger des Lebens und seiner Erscheinungen, erwecken, dürfte es ein zeitgemässes Unternehmen sein, in einer umfassenden Zusammenstellung die Thatsachen vorzuführen, welche diese noch immer räthselhaften Stoffe als chemische Individuen charakterisiren.

Das Hauptkriterium für die Reinheit und Einheitlichkeit eines Körpers ist seine Krystallisationsfähigkeit. Es soll daher gezeigt werden, inwieweit dieses Kriterium beim Eiweiss anwendbar ist.

Es gab eine Zeit, wo man eine spezifische Eigenschaft der Eiweissstoffe gerade darin suchte, dass sie als „colloidale“ Körper nicht im Stande seien zu krystallisiren. Heute können wir auf Grund zahlreicher Beobachtungen diese alte Annahme als irrig bezeichnen. Wenn es in vielen Fällen nicht gelingt, eine Krystallisation herbeizuführen, so liegt das an den Unvollkommenheiten der Methoden der Reinigung und der Abscheidung, und ist nicht durch eine spezifische Eigenschaft der Proteine bedingt.

Es gibt eine grosse Anzahl von Angaben über natürlich vorkommende Eiweisskrystalle, sowohl in pflanzlichen, als auch in thierischen Organismen. Es handelt sich hierbei, wie im Einzelnen noch später ausgeführt werden soll, um meist schön ausgebildete Krystallindividuen. Der Werth dieser Beobachtungen ist jedoch für die Beurtheilung des Eiweisses als solchen ein beschränkter, da es nicht ohne weiteres zulässig ist, diese Krystallgebilde mit den künstlichen Krystallisationen, die der Chemiker fortwährend ausführt, auf eine Stufe zu stellen.

Wir kennen eine grosse Anzahl von Gebilden, die ihrem physikalischen Verhalten und der äusseren Erscheinung nach unzweifelhaft als Krystalle angesprochen werden müssen, die jedoch als Producte der Thätigkeit lebender Zellen aufzufassen sind, und bei denen es sehr zweifelhaft ist, ob sie einem Process ihren Ursprung verdanken, der mit einer Reinabscheidung eines chemischen Individuums identificirbar

ist. Es sei hier nur daran erinnert, dass die Skelette vieler niederer Thiere aus derartigen Gebilden bestehen. So wäre es denn auch möglich, dass die erwähnten Eiweisskrystalle, als Producte der Thätigkeit lebender Zellen, kein Kriterium für die Reinheit der betreffenden Stoffe darböten, selbst wenn sie sich mechanisch von der umgebenden Zellmasse rein abscheiden liessen.

Da es gelingt, solche natürlich vorgebildete Krystalle aufzulösen, und aus diesen Lösungen auf rein physikalische Weise das Eiweiss wieder in schönen Krystallen zur Abscheidung zu bringen, so sind wir, was das Studium des Eiweisses anbetrifft, der Entscheidung dieser Frage enthoben. Dazu kommt noch, dass es mit der Zeit gelungen ist, auch Eiweisskörper, die nicht als Krystalle natürlich vorgebildet sind, zu krystallisiren und zwar so, dass sie sich auch durch mehrmaliges Umkrystallisiren völlig von amorphen Beimengungen befreien lassen.

A. Natürlich vorkommende pflanzliche Eiweissstoffe.

In den Samen vieler Pflanzen (z. B. Kürbissamen, Hanfsamen, Ricinussamen, Paranuss), sowie in lebhaft keimenden Pflanzentheilen, auch in der Kartoffelknolle, befinden sich die erwähnten krystallinischen Gebilde oft in reichlichen Mengen. Ueber dieselben hat sich eine ausserordentlich umfangreiche Litteratur gebildet, deren eingehendere Berücksichtigung weit über den Raum dieses Büchleins hinausgeht. Diese krystallinischen Gebilde, die man auch als Aleuronkrystalle und als Pflanzenkrystalloide bezeichnet hat, sind im Jahre 1850 von Th. Hartig (1) im Klebermehl entdeckt. Radlkofer (2) widmete denselben 1858 eine grössere Monographie. Er entdeckte zuerst die Eiweissnatur der Aleuronkrystalle. Der erste Theil der Monographie behandelt eingehend die von Radlkofer entdeckten Proteinkrystalle in den Zellkernen von *Lathraea squamaria*, einem chlorophylllosen Schmarotzer aus der Familie der Gesneraceae. Der durch seine rothe Farbe weithin sichtbare Schmarotzer (im Frühjahr an feuchten Stellen auf faulendem Holz an einzelnen Stellen massenhaft auftretend) eignet sich sehr gut zur Demonstration dieser Krystalle. In einem anderen Abschnitte werden die sog. Aleuronkrystalle Hartig's bei *Sparganium ramosum*, *Ricinus communis*, *Bertholletia excelsa* (Paranuss) besprochen. Andere Kapitel sind dem später zu erwähnenden Hämokrystallin (Hämoglobin), sowie den Dotterplättchen der Amphibien und Fische gewidmet.

Eine weitere umfassende Litteraturzusammenstellung bis zum

1) Th. Hartig, Ueber das Klebermehl. Bot. Zeitung, 1850, No. 50, Sp. 881.

2) L. Radlkofer, Ueber Krystalle proteinartiger Körper pflanzlichen und thierischen Ursprungs. Leipzig, W. Engelmann, 1859, 154 SS. 3 Tafeln.

Jahre 1878 gibt Schimper (3). Nachdem die Krystalle einmal entdeckt und als Proteinkörper erkannt waren, concentrirte sich zunächst das Hauptinteresse auf die Frage, ob dieselben echte Krystalle seien, oder ob sie nur als Krystalloide, krystallähnliche Körper zu bezeichnen seien. Für uns ist diese Frage, die später noch im Zusammenhang mit den übrigen Eiweisskrystallen erörtert werden soll, von besonderer Wichtigkeit, da wir darauf ausgehen, die Krystallisation der Eiweissstoffe als Mittel zur Reindarstellung zu benutzen. Zwei Punkte waren es, auf die sich die Discussion hauptsächlich erstreckte. Die Krystalle unterscheiden sich von anderen Krystallen erstens durch ihre Quellbarkeit. Unter der Einwirkung von Wasser oder verdünntem Alkali vergrössern die Krystalle ihren Umfang wesentlich, das Lichtbrechungsvermögen wird schwächer, die Contouren bleiben jedoch scharf wie bei gewöhnlichen Krystallen. Die Vergrösserung der Krystalle beim Quellen ist, wie Schimper durch genaue Messungen nachwies, nicht nach allen Richtungen eine gleichmässige, sondern in den verschiedenen Axen verschieden, so dass der gequollene Krystall krystallographisch verschieden ist von dem nicht gequollenen. Schimper schliesst sich in seiner Arbeit, die übrigens im wesentlichen krystallographisches Interesse bietet, der alten Anschauung Nägeli's (4) an, wonach die Krystalloide als organisches Gebilde von den echten Krystallen abzutrennen sind. Ich komme später noch auf diese Frage zurück.

Eine zweite eigenthümliche Eigenschaft der Pflanzenkrystalloide, die sich bei den gewöhnlichen Krystallen nicht findet, besteht darin, dass die „Krystalloide“ sich zum Theil in Glycerin lösen. Es bleibt dabei jedoch ein fester, homogener Körper zurück von der Gestalt des unveränderten Krystalloides, der sich aber in seiner Lichtbrechung kaum vom Wasser unterscheidet. Schimper neigt der Anschauung Nägeli's zu, wonach die Krystalloide aus zwei verschiedenen Stoffen zusammengesetzt sind, von denen der eine in Glycerin in Lösung geht, der andere nicht. Pfeffer (5) hat demgegenüber die Ansicht ausgesprochen, dass es sich hierbei um eine chemische Spaltung unter der Einwirkung des Glycerins handelte, wobei das eine Spaltungsproduct in Lösung geht, das andere das Skelett bildet. Schimper verwirft diese Annahme, „da es unbegreiflich wäre, wie ein Spaltungsproduct, das nur einen so kleinen Theil des Krystalloides bildete, doch ein zusammenhängendes, zartes, aber festes Skelett würde bilden

3) A. F. W. Schimper, a) Untersuchungen über die Proteinkrystalle der Pflanzen, Diss. Strassburg 1878. — b) Ueber die Krystalle eiweissartiger Substanzen. Zeitschr. f. Krystallographie, 1880.

4) Nägeli, Botan. Mittheilungen, Bd. 1, 1862, S. 217.

5) Pfeffer, Untersuchungen über die Proteinkörner. Pringsheim's Jahrb., Bd. 8, 1872.

können“. Er hält es für wenig wahrscheinlich, dass beide Stoffe dem Wesen des Krystalloides angehören; die Imbibitionsfähigkeit der Krystalloide macht ihm eine Einlagerung fremder Stoffe denkbar.

Aehnliche Beobachtungen können unter anderen Verhältnissen auch bei anderen Krystallen gemacht werden, von denen es nicht zweifelhaft ist, dass es sich um echte Krystalle handelt. So theilt, um ein Beispiel zu erwähnen, Moritz (6) mit, dass man in Harnsäurekrystallen, die aus Harn auskrystallisirt waren, nach gewissen Methoden ganz regelmässig einen nicht krystallinischen Einschlusskörper genau von der Form des ursprünglichen Krystalls konstatiren kann. Ein derartiger Einschlusskörper liess sich auch beim Auflösen von Harnsäurekrystallen darstellen, die aus chemisch gereinigter Harnsäure, ja sogar aus synthetischer, gewonnen waren. Moritz fasst, und wohl mit Recht, diesen Einschlusskörper als Verunreinigung (im Sinne Schimper's) auf.

Als interessantes Beispiel dafür kann ich auch eine eigene Beobachtung anführen. Lässt man menschlichen Harn (am besten bei vorwiegender Fleischnahrung) 24—48 Stunden unter häufigem Umschütteln mit Dicalciumphosphat stehen (zur Verhinderung der Fäulniss wird Thymol zugefügt), filtrirt dann ab und überlässt das Filtrat der freiwilligen Verdunstung bei Zimmertemperatur oder auch bei Bruttemperatur, so scheidet sich nach einiger Zeit ein Niederschlag von ca. $\frac{1}{2}$ mm grossen eigenthümlichen Krystallen ab. Dieselben sind wetzsteinförmig mit gezackten Spitzen; sie sind stark lichtbrechend,



im polarisirten Licht doppelbrechend. Bei Zusatz von verdünnter Essigsäure machen die Krystalle eine eigenthümliche Veränderung durch, es wird ein Theil aus denselben herausgelöst, die Krystalle verlieren ihr starkes Lichtbrechungsvermögen, behalten aber vollständig ihre Form und bleiben auch bei starker Vergrösserung homogen. Gegenüber dem polarisirten Licht werden sie einfachbrechend. Wir haben also hier ein Analogon zu dem Verhalten der Proteïnkrystalloide gegenüber dem Glycerin. Dieser Fall ist dadurch besonders interessant, dass sich die beteiligten Substanzen genauer charakterisiren lassen. Die Substanz, welche beim Zusatz von Essigsäure in Lösung geht, ist Calciumphosphat, der Einschlusskörper, welcher zurückbleibt, ist Calciumsulfat. Eine vergleichende Untersuchung wird festzustellen haben, ob es sich hier um einen Vorgang entsprechend der Theorie von Naegeli-Schimper handelt, ob der Gyps als Verunreinigung mit niedergerissen wird, oder ob ein experimenteller Beweis für die

6) Moritz (München) in der Discussion zu einem Vortrag von His. Verhandlungen des Congresses für innere Medicin, Bd. 18, 1900, S. 440—441.

Möglichkeit der Pfeffer'schen Theorie vorliegt, ob es sich um eine Doppelsalzbildung zwischen Calciumphosphat und -sulfat handelt, die durch die Einwirkung der Essigsäure zerlegt wird. Ich neige nach meinen Erfahrungen, die noch nicht spruchreif sind, vorläufig der Ansicht zu, dass es sich in dem hier mitgetheilten Falle um die Zerlegung eines Doppelsalzes durch die Essigsäure handelt, gebe aber gerne zu, dass in betreff der Proteinkrystalloide die Schimper'sche Ansicht voraussichtlich die zutreffende ist.

Ausser den erwähnten Forschern haben sich Maschke (7), Th. Weyl (8), Schmiedeberg (9), Ritthausen (10), Barbieri (11), Drechsel (12), Grübler (13), S. H. Vines (14) und neuerer Zeit besonders Osborne und Chittenden (15) mit den Proteinkrystallen der Pflanzen beschäftigt. Der Werth dieser Untersuchungen beruht hauptsächlich in zahlreichen Elementaranalysen der zum grossen Theil durch Umkrystallisiren noch weiter gereinigten Proteinkrystalloide.

7) O. Maschke, Krystallisirte Proteinverbindung a) Journal für prakt. Chemie, Bd. 74, 1858, S. 436; b) Botan. Zeitung, 1859, Sp. 441.

8) Th. Weyl, Zur Kenntniss thierischer und pflanzlicher Globuline. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 1, 1877, S. 72—100. (Litteraturangaben.)

9) O. Schmiedeberg, Ueber Darstellung der Paranuskrystalle. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 1, 1877, S. 205—209.

10) H. Ritthausen, a) Die Eiweisskörper der Pflanzensamen. Pflüger's Archiv, Bd. 15, 1877, S. 269—288. — b) Zusammensetzung der Proteinsubstanzen der Bertholletia- (Para-)Nüsse. Pflüger's Archiv, Bd. 16, S. 301—305. — c) Krystalinische Eiweisskörper aus verschiedenen Oelsamen. Journal f. prakt. Chemie, Bd. 23, 1881, S. 481—486; Bd. 24, S. 257—273. — d) Zusammensetzung der Eiweisskörper des Hanfsamens und des krystallisirten Eiweisses aus Hanf und Ricinusamen. Journal f. prakt. Chemie, Bd. 25, 1882, S. 130—137. — e) Zusammensetzung des krystallisirten Eiweiss aus Kürbissamen. Journ. f. prakt. Chemie, Bd. 25, S. 137—141. — f) Die Eiweisskörper der Getreidearten etc. Bonn, Max Cohen, 1872, 252 SS.

11) J. Barbieri, Die Eiweisssubstanz des Kürbissamens. Journal f. prakt. Chemie, Bd. 18, 1878, S. 102—116.

12) E. Drechsel, Ueber Darstellung krystallinischer Eiweisskörper (Paranus). Journ. f. prakt. Chemie, Bd. 19, S. 331—334.

13) G. Grübler, Ueber ein krystallinisches Eiweiss des Kürbissamens. Journ. f. prakt. Chemie, Bd. 23, 1881, S. 97—137.

14) S. H. Vines, Ueber Proteinsubstanzen der Pflanzensamen. Journal of Physiol., Vol. 3, 1881, p. 93—114.

15) a) R. H. Chittenden u. Th. B. Osborne, Studien über die Albuminstoffe des Maiskorns. Amerikan. chem. Journal, Bd. 13, No. 7 u. 8; Bd. 14, No. 1, 1892. — b) Th. Osborne, Proteinstoffe des Flachssamens. Amerik. chem. Journ., Bd. 14, No. 8. — c) Osborne, Krystallin. vegetabil. Proteinstoffe. Amer. chem. Journ., Bd. 14, No. 8. — d) Osborne u. C. G. Voorhes, Ueber die Eiweisskörper des Baumwollsamens. Journ. Amer. chem. Soc., Vol. 16, 1894. — e) Dieselben, Ueber die Eiweisskörper von Phaseolus vulgaris. Journ. Amer. chem. Soc., Vol. 16, 1894, No. 9 u. 10. — f) Chittenden u. L. B. Mendel, Journ. of Physiol., Vol. 17, 1894, S. 48.

Namentlich die letztgenannten Forscher haben ein kaum zu übersehendes Analysenmaterial beigebracht. Die zahlreichen Arbeiten derselben sind von V. Griessmayer (16) in einer Uebersetzung zusammengestellt. Das Buch hat leider darauf verzichtet, die zahllosen zerstreuten Angaben einigermaßen übersichtlich zu machen, ist aber doch als Litteraturzusammenstellung von Werth.

B. Natürlich vorgebildete thierische Eiweisskrystalle.

Gegenüber dem häufigen und massenhaften Vorkommen vorgebildeter pflanzlicher Eiweisskrystalle stehen die Beobachtungen natürlich vorgebildeter thierischer Eiweissstoffe mehr als seltene Curiosa da. Dies mag in Zusammenhang stehen mit der geringen Fähigkeit des thierischen Organismus, Reserveeiweiss abzulagern.

In den Darmepithelien des Mehlwurms (*Tenebrio molitor*), und zwar nicht nur in den Kernen, sondern auch in besonderen Einschlüssen des Zellkörpers, sowie frei im Plasma findet sich Eiweiss in Form schöner sechsseitiger Tafeln abgelagert. Die Darmepithelien werden in das Darmlumen abgestossen und unterliegen dort der Verdauung, wobei die eingeschlossenen Eiweisskrystalle lange Widerstand leisten, so dass im Darminhalte sich zahlreiche isolirte Krystalle vorfinden. Diese Krystalle wurden, nachdem sie schon anderweitig [Frenzel u. A. (17)] entdeckt und beschrieben waren, von Biedermann (18) genauer untersucht und die Eiweissnatur bestätigt.

Ferner sind nach den Angaben von List (19) in den Pigmentzellen der Radialnerven von *Sphaerenchinus granularis* (einer Echinide) Rhomboeder und Hexaeder zu finden, die aus Proteinstoffen bestehen.

Hier sind auch zu nennen die sog. Dotterplättchen, rechteckige und quadratische Tafeln, die in den Eiern von Fischen und Amphibien zur Beobachtung gelangen. Dieselben sind von Fremy

16) Victor Griessmayer, Die Proteide der Getreidearten, Hülsenfrüchte und Oelsamen, sowie einiger Steinfrüchte, Heidelberg, C. Winter's Verlag, 1897, 301 SS.

17) Joh. Frenzel, a) Einiges über den Mitteldarm der Insekten. *Archiv f. mikrosk. Anat.*, Bd. 26, S. 287. — b) Bau und Thätigkeit des Verdauungskanal der Larve von *Tenebrio molitor*. *Berl. entomol. Zeitschr.*, Bd. 26, 1882.

c) Rengel, *Zeitschr. f. wissenschaftl. Zoologie*, Bd. 62, 1896.

Mingazzini, *Mittheil. der zool. Station Neapel*, Bd. 9, 1889.

18) W. Biedermann, Die Verdauung der Larve von *Tenebrio molitor*. *Pflüger's Arch.*, Bd. 72, S. 105—160 (S. 113—128 kritische Litteraturzusammenstellung).

19) R. List, Ueber die Entwicklung von Proteinkrystalloiden in den Kernen der Wanderzellen bei Echiniden. *Anatom. Anzeiger*, Bd. 7, 1897, S. 185—191.

und Valenciennes (20) eingehend beschrieben. Radlkofer widmete denselben in seiner erwähnten Monographie (2) einen besonderen Abschnitt. Er erkannte zuerst deren Aehnlichkeit mit den Pflanzenkrystalloiden und ihre Eiweissnatur. Auf Grund genauerer chemischer Untersuchung unterschied er an denselben 4 verschiedene, eiweissartige Stoffe, Ichthidin, Ichthulin, Ichthin, Emydin. Fremy und Valenciennes hatten schon ähnliche Befunde erhoben. Spätere Untersuchungen von Walther (21) zeigten, dass diese Stoffe hauptsächlich aus Phosphorglykoproteiden bestehen. Ichthulin und Ichthidin sind nach ihm Modificationen derselben Substanz. Gerade bei den Dotterplättchen, die ausser den erwähnten Stoffen auch Lecithin und Mineralbestandtheile zu enthalten scheinen, ist es höchst wahrscheinlich, dass sie nicht als Krystalle im Sinne der Chemiker aufzufassen sind (s. auch P. Groth, Festschrift für C. von Kupffer, 1889, S. 586).

Die Dotterplättchen sind in dieser Hinsicht eher in Parallele zu stellen mit den Gerüstnadeln von *Acanthometra* (22), die ein krystallinisches Gefüge haben und angeblich aus Eiweiss bestehen.

Ganz kürzlich hat v. Ebner auch schön ausgebildete, anscheinend reguläre Krystalle einer globulinartigen Substanz in den Eiern des Reh's gefunden*).

Weiterhin beschrieb Lubarsch (23) in den Epithelien des Hodens vom Menschen vorkommende Krystalle. Lenhossek (24) schloss aus der Biegsamkeit derselben, dass sie mit den Pflanzenkrystalloiden vergleichbar seien. Cohn (25) schliesst sich der Ansicht an, dass es sich um Eiweisskrystalle im Sinne Naegeli's handle. Nach meiner Meinung genügen die bisherigen Beobachtungen nicht, um mit Sicherheit zu sagen, dass es sich um Eiweisskrystalloide handelt.

20) Fremy u. Valenciennes, *Compt. rendues*, T. 38, 1855, p. 471.; *Ann. d. Chim. et de Phys.*, (3) T. 50, 1857, p. 129; s. auch M. Gobley, *Journ. de Pharm. et de Chim.*, Sér. 3, T. 17, 1850, p. 401.

21) H. Walter, *Zur Kenntniss des Ichthulins und seiner Spaltungsproducte. Zeitschr. f. phys. Chemie*, Bd. 15, 1891, S. 477. Eingehender berücksichtigt sind die Dotterplättchen in Hermann's *Handbuch*, Bd. 2, S. 25—26, sowie in Hoppe-Seyler, *Lehrb. d. physiol. Chem*, S. 577—578.

22) a) O. Hertwig, *Jenaische Denkschriften*, Bd. 2, 1879.

b) Brandt, *Monatsberichte der Berliner Akademie*, 1881, S. 388.

23) Lubarsch, *Vorkommen krystallinischer Bildungen in den Zellen des menschlichen Hodens. Virchow's Arch.*, Bd. 145, S. 317 u. 362; *Deutsche med. Wochenschr.*, Bd. 22, 1896, S. 755; s. auch P. Fürbringer, *Zur Kenntniss der specifischen Krystallbildungen im Genitalsystem des Mannes. Deutsche med. Wochenschr.*, Bd. 22, 1896, S. 603.

24) Lenhossek, *Arch. f. Anatomie*, 1897.

25) Th. Cohn, *Die krystallinischen Bildungen des menschl. Genitaltractus. Centralbl. f. allg. Path. u. path. Anat.*, Bd. 10, 1899, S. 940.

*) V. v. Ebner, *Ueber Eiweisskrystalle in den Eiern des Reh's. Sitzungsberichte der k. Akad. zu Wien*, Bd. 110, 1901, Abth. 3.

Das Vorkommen von Hämoglobinkrystallen in Gewebspräparaten ist nicht selten, ist aber als postmortale Erscheinung aufzufassen und gehört daher in die Reihe der künstlichen Krystallisationen von Eiweisskörpern. Neuerdings hat Browicz (26) die Ansicht ausgesprochen, dass die Ablagerung von Hämoglobin- und Methämoglobinkrystallen eine Function der Leberzellen sei. Die Angaben machen den Eindruck, als ob in der That im Verlaufe der Bereitung von Gallenfarbstoff aus Blutfarbstoff eine derartige Krystallbildung stattfinde.

Endlich theilt Schimper (3) mit, dass Graf Solms-Laubach einmal im frischen Blute der Seidenraupe schöne Eiweisskrystalle beobachtet habe. Ich werde hierauf (S. 34) zurückkommen.

In allen hier mitgetheilten Fällen handelt es sich um vereinzeltes Vorkommen von Eiweisskrystallen im thierischen Organismus; es ist bis jetzt, abgesehen von den Dotterplättchen nirgends gelungen, diese Krystalle durch Umkrystallisiren von ihrer Umgebung abzutrennen. Die Beobachtungen haben daher vorläufig nur ein theoretisches Interesse.

C. Künstlich, durch Umkrystallisiren natürlich vorgebildeter, erzeugte Eiweisskrystalle.

Die vorher beschriebenen Krystalloide der Pflanzensamen lassen sich zum Theil in schönster Weise durch Umkrystallisiren isoliren und reinigen. Die ersten positiven Versuche in dieser Richtung rühren von Maschke (7) her, der die Aleuronkrystalle von Bertholletia (Paranuss) durch Verdunsten einer gesättigten Lösung als niedere, tafelförmige, sechsseitige Prismen wiedergewann. Einen wesentlichen Fortschritt bedeutet ein von Schmiedeberg (9) zuerst angewandtes Verfahren zum Umkrystallisiren der Proteinkrystalloide der Paranuss. Die durch Aufschlänmen mit Petroläther einigermaassen isolirten Krystalloide wurden in destillirtem Wasser bei 30—35° gelöst, und aus dieser Lösung durch Einleiten von Kohlensäure gefällt. Der Eiweissniederschlag wurde dann mit überschüssigem Magnesiumoxyd bei 30—35° wieder gelöst, aus dem Filtrat schieden sich bei vorsichtigem Einengen (30—35° möglichst constant) bis mohnkorn-grosse, schöne Krystalle neben kleineren, schlechter ausgebildeten Krystalloiden ab. Schmiedeberg fasste dieselben als Magnesiumverbindung des Vitellins der Paranuss auf, welches der Hauptbestandtheil der Krystalloide ist; Angaben über den Magnesiumgehalt der dargestellten Krystalle

26) Browicz, Eine ganze Reihe von Arbeiten im Anzeiger d. Akad. d. Wissensch. in Krakau, sowie in dem „Bull. internat. de l'Acad. des Sciences de Cracovie“ der Jahre 1897—99. Die Arbeit „Ueber Krystallisationsphänomene in der Leberzelle“, Anzeiger 1898, enthält eine Zusammenfassung. Eine solche ist auch in den Bulletins, Juillet 1899.

macht er nicht. Später hat Drechsel (12) in einem auf die eben beschriebene Weise dargestellten Präparat 1,4 Proc. MgO gefunden.

Die Schmiedeberg'sche Darstellungsweise durch Einengen der magnesiahaltigen Lösung des Vitellins ist mit Schwierigkeiten verknüpft und führt nicht immer zu guten Resultaten. Drechsel entfernte deshalb aus den nach Schmiedeberg gewonnenen, Magnesia enthaltenden Lösungen das überschüssige Wasser, indem er gegen absoluten Alkohol dialysirte, und erhielt auf diese Weise ebenfalls ein schön krystallinisches Eiweisspräparat, das beim Verbrennen 1,43 Proc. Magnesiumoxyd als Asche hinterliess. Auf die Bedeutung und den Werth dieser Darstellungsmethoden soll noch zurückgekommen werden.

In neuerer Zeit sind dann namentlich von Osborne (15) und den anderen oben genannten Autoren aus einer ganzen Reihe von Getreidearten, Hülsenfrüchten und Oelsamen durch Umkrystallisiren der Proteinkrystalloide schön krystallinische Eiweisspräparate erhalten worden. In Bezug auf die Methodik muss auf die Originalarbeiten [bezw. das Buch von Griesmayer (16)] verwiesen werden, hier sei nur das „Edestin“ als Beispiel etwas ausführlicher besprochen, ein krystallinisches Eiweisspräparat, das leicht in grossen Mengen zu gewinnen ist und wohl von Bedeutung für die Eiweiss-Chemie werden dürfte. Dasselbe hat denn auch schon von Zadik, Leipziger und Hausmann (27) praktische Verwendung gefunden.

Das Edestin, der Haupteiweissbestandtheil des Hanfsamens, gehört zu den Globulinen bezw. Vitellinen, Eiweissarten, die in destillirtem Wasser unlöslich, in verdünnten Salzlösungen dagegen löslich sind. Der Name „Edestin“ rührt von Osborne her (15d), der diesen Körper mehrfach untersuchte. Eine gute Vorschrift zur Darstellung des Edestins findet man bei Leipziger (27). Zieht man zerkleinerten und entfetteten Hanfsamen mit warmer, mässig concentrirter Kochsalzlösung aus und filtrirt diese warme Lösung, so scheidet sich beim Erkalten ein schön krystallinischer Niederschlag ab, der sich in analoger Weise beliebig umkrystallisiren lässt. Die Ausbeute ist sehr gut, so dass man mit Leichtigkeit mehrere hundert Gramm darstellen kann.

27) a) H. Zadik, Stoffwechselversuche mit Phosphorhalt. und freien Eiweisskörpern. Pflüger's Archiv, Bd. 77, 1899, S. 1.

b) Leipziger, Pflüger's Archiv, Bd. 78, 1899, S. 402. Die Vorschrift lautet zweckmässig: 1 kg Hanfsamen (gemahlen oder in einer Oelpresse zerquetscht) mit Aether, später Petroläther entfettet; nach dem Verdunsten des Aethers mit 1 l 5-proc. Kochsalzlösung 1 Stunde unter Umrühren auf 60° erwärmt; colirt, abgekühlt; nach dem Absetzen dekantirt, mit destillirtem Wasser durch Dekantiren gewaschen. Niederschlag in $\frac{1}{2}$ l 5-proc. NaCl-Lösung bei 60° gelöst und im Heisswassertrichter filtrirt. Beim Erkalten Ausscheidung prächtiger oktaedrischer Krystalle. Dieselben werden durch Dekantiren mit kalter 5-proc. NaCl-Lösung, Aqua dest., Alkohol und Aether gewaschen und getrocknet. Ausbeute ca 100 g.

c) W. Hausmann, Vertheilung des Stickstoffes in Eiweissmolekül. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 29, 1900, S. 136.

D. Künstliche Krystallisation nicht krystallinisch vorgebildeter Eiweissstoffe.

I. Krystallisirtes Eialbumin (aus Hühnerei).

Für unsere Auffassung von der Natur der Eiweissstoffe von ungleich grösserer Wichtigkeit ist es, dass man auch Eiweissstoffe, die nicht krystallinisch vorgebildet sind, sondern in Lösung sich vorfinden, zur Krystallisation bringen kann. Gerade die Prototypen der Eiweissstoffe, die uns fast täglich vor Augen treten, gehören hierher; das gewöhnliche Eiereiweiss, von dem ja die ganze Klasse von Stoffen ihren Namen hat, ist an erster Stelle zu nennen.

Das Eiereiweiss des Hühnereies, dessen als Typus einer Eiweisslösung geltende physikalische Beschaffenheit jedermann bekannt ist, besteht aus einer hochconcentrirten, salzhaltigen, wässerigen Lösung verschiedenartiger Eiweissstoffe. Hofmeister (28) gebührt das Verdienst, gezeigt zu haben, dass einer dieser Stoffe unter besonderen Bedingungen in Form von schönen Krystallen zur Abscheidung gebracht werden kann. Damit war der Bann gebrochen, der gerade die Nichtkrystallisirbarkeit des Eiereiweisses und seiner verwandten Stoffe als eine charakteristische, specifische Eigenschaft verkündete.

Versetzt man das Weisse von Hühnereiern mit dem gleichen Volumen einer kalt gesättigten, wässerigen Lösung von Ammonsulfat, so wird dadurch ein Theil der Eiweissstoffe, die sogen. Eiglobuline, ausgefällt, während die Eialbumine in Lösung bleiben. Diese Eialbumine werden durch Erhöhung der Concentration an Ammonsulfat ebenfalls gefällt, und zwar wird durch völliges Sättigen mit Ammonsulfat alles Eiweiss aus der Lösung entfernt. Wird nach Zusatz des gleichen Volumens concentrirter Ammonsulfatlösung von dem Globulinniederschlag abfiltrirt, und das Filtrat durch Verdunsten in offenen Schalen bei Zimmertemperatur eingeengt, so scheidet sich bei entsprechender Concentration an Ammonsulfat Eialbumin in grossen Kugeln (sogen. Globulithen oder Sphärolithen) aus. Löst man diesen von der Mutterlauge abgeschiedenen Niederschlag in verdünnter Ammonsulfatlösung auf und bringt das Albumin durch nochmaliges langsames Verdunsten des Wassers wieder zur Abscheidung, so enthält der Niederschlag schon theilweise strahlig zerfallende Globulithen, sphärisch angeordnete Nadeln. Durch wiederholtes Lösen und Wiederausfällen bekommt man

28) Franz Hofmeister, a) Ueber Darstellung von krystallisirtem Eialbumin und die Krystallisirbarkeit colloidalen Stoffe. Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 14, 1889, S. 165—172.

b) Ueber die Zusammensetzung des krystallinischen Eialbumins. Ebenda B. 16, 1891, S. 187—199.

schliesslich Niederschläge, die ausschliesslich aus schönen, mikroskopischen Nadeln bestehen. Dieses umständliche, zeitraubende Verfahren lässt sich, wie Hofmeister später (28 c, S. 161) mittheilte, wesentlich vereinfachen, wenn man einmal Krystalle erzielt hat, indem durch Ausimpfen dieser Krystalle, die sich in halb concentrirter Ammonsulfatlösung nicht wieder lösen, gleich die erste Abscheidung des Albumins zum überwiegenden Theil in gut ausgebildeten Krystallen erfolgt. Immerhin lässt aber auch so die Darstellung an Handlichkeit und Sicherheit des Erfolges manches zu wünschen übrig.

Ein wesentlicher methodischer Fortschritt besteht darin, dass man die Ausfällung des Albumins bei saurer Reaction vor sich gehen lässt. Hopkins u. Pinkus (29) haben hierzu verdünnte Essigsäure empfohlen. Später hat Krieger (30) in einer Arbeit aus dem Hofmeister'schen Laboratorium mitgetheilt, dass man, allerdings für Serumalbumin, noch bessere Resultate erzielen kann durch Zusatz von verdünnter Schwefelsäure. Das Krieger'sche Verfahren lässt sich, wie Verfasser (31) sich überzeugte, mit grossem Vortheil auch auf das Eieralbumin anwenden. Osborne (32) verwandte ebenfalls mit gutem Erfolg HCl zur Darstellung von krystallinischem Eieralbumin. Bei Verwendung von Säure ist man des zeitraubenden Einengens durch Verdunsten (nach Ausfällung der Globuline) enthoben, indem man einfach bis zur beginnenden Ausscheidung des Eiweisses von dem Reagens hinzugeben kann. Bei einigem Stehen setzt sich dann gleich bei der ersten Ausfällung ein fast rein krystallinischer Niederschlag ab. Auch ich gebe nach meinen Erfahrungen der verdünnten Schwefelsäure den Vorzug vor der Essigsäure. Die Krystallisation erfolgt reichlicher, rascher und sicherer; aber auch hier ist man vor Misserfolgen nicht vollständig gesichert. Es ist mir einige Mal vorgekommen, dass ich, ohne den Grund zu kennen, bei genauer Einhaltung der Vorschrift, die sonst zum Ziele führt, gar keine oder nur höchst unvollständige Krystallisation erzielen konnte.

Kürzlich hat Langstein (33) in einer ebenfalls aus dem Hofmeister'schen Laboratorium stammenden Untersuchung sich nicht

28) c) Ueber jodirtes Eieralbumin. Ebenda Bd. 24, 1897, S. 159—172.

29) F. G. Hopkins u. S. N. Pinkus, Bemerkungen über die Krystallisation thierischer Albuminstoffe. Journ. of Physiol., Vol. 23, 1898, p. 130—136.

30) Hans Th. Krieger, Ueber Darstellung krystallinischer thierischer Eiweissstoffe. Diss. Strassburg 1899.

31) Fr. N. Schulz, Ueber Oxydation von krystallisirtem Eiereiweiss mit Wasserstoffsperoxyd. Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 29, 1899, S. 87.

32) Th. B. Osborne, Ueber Eieralbumin. Journ. Americ. Chem. Soc., Vol. 21, 1899, p. 477—485.

33) Leo Langstein, Die Kohlehydratgruppe des krystallisirten Oralbumins. Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 31, 1900, S. 52.

des Krieger'schen Verfahrens, sondern desjenigen von Hopkins und Pinkus bedient zur Darstellung von krystallisiertem Ovalbumin. Es schein also noch nicht definitiv entschieden, welche von beiden Methoden den Vorzug verdient (34).

Ausser diesen Arbeiten, die methodisches Interesse bieten für die Darstellung von Eiereiweisskrystallen, liegen eine grössere Anzahl von Untersuchungen vor, die sich mit der chemischen Natur der Ovalbumin-krystalle beschäftigten, ohne in Bezug auf die Darstellung wesentlich Neues zu bieten. Hier sind zu nennen Arbeiten von Harnack (35), Gabriel (36), Bondzynski und Zoja (37), Verfasser (38), Panor-

34) Die verschiedenen Vorschriften zur Darstellung von krystallisiertem Ovalbumin seien hier kurz zusammengestellt.

a) Darstellung nach Hofmeister (28a, c): Eierweiss wird zu Schaum geschlagen; nachdem der Schaum wieder zergangen ist wird filtrirt; Filtrat + gleiches Volumen concentrirter Ammonsulfatlösung, nach einigen Stunden filtrirt; Filtrat in offenen Schalen verdunstet (zweckmässig nachdem Krystalle ein früherer Darstellung ausgeimpft) bis zur reichlichen Abscheidung; filtrirt; Niederschlag gelöst in Wasser (Gabriel [36]), mit concentr. Ammonsulfatlösung bis zur beginnenden Trübung versetzt; durch Verdunsten weiter eingengt.

b) Darstellung nach Krieger (30): Eierweiss (direct) mit gleichem Volumen concentr. Ammonsulfatlösung versetzt, filtrirt; Filtrat mit $\frac{1}{10}$ Normal-schwefelsäure, die halb mit Ammonsulfat gesättigt ist, bis zur deutlichen Trübung versetzt. Beim Stehen scheidet sich im Verlauf von 24 Stunden ein fast rein krystallinischer Niederschlag ab. Der Niederschlag lässt sich durch Lösen in Wasser und Zusatz von Ammonsulfat (ohne Säure!) bis zur beginnenden Trübung schön umkrystallisiren. Ausbeute pro Ei ca. 1 g.

c) Darstellung nach Hopkins u. Pinkus (29): Eierweiss + gleiches Vol. concentr. Ammonsulfatlösung, filtrirt. Filtrat + concentr. Ammonsulfatlösung bis deutlicher Niederschlag eintritt. + Aqua dest., bis sich dieser Niederschlag wieder löst; Zusatz von 10-proc. Essigsäure tropfenweise bis zur beginnenden Abscheidung; nach 24 Stunden hat sich ein reichlicher krystallinischer Niederschlag gebildet. Umkrystallisirt ohne Essigsäurezusatz. Ausbeute befriedigend.

35) O. Harnack, Studien über das sog. aschefreie Albumin. Chem. Ber., Bd. 23, 1890, S. 3745—3752. S. 3748: „Es ist mir ohne besondere Schwierigkeit gelungen, schön krystallisirte Verbindungen des Albumins mit schwefelsaurem Ammon in gut ausgebildeten Tafeln und Säulen zu erhalten, aber diese Verbindungen sind alle sehr eiweissarm, sie enthalten nur etwa 5 Proc. Albumin.“ Die hier erwähnten Krystalle sind nicht identisch mit dem Hofmeister'schen krystallisirten Eieralbumin, welches nur aus Eiweiss besteht. Die Angabe Harnack's ist bisher nicht aufgeklärt.

36) S. Gabriel, Bemerkungen über Hofmeister's krystallinisches Eieralbumin. Zeitschrift f. physiol. Chem., Bd. 15, 1891, S. 456—465.

37) St. Bondzynski u. L. Zoja, Ueber fraktionirte Krystallisation des Eieralbumins. Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 19, 1894, S. 1—18.

38) Fr. N. Schulz, Die Bindungsweise des Schwefels im Eiweiss. Ebenda Bd. 25, 1898, S. 29 u. 30.

moff (39) Umber (40), Wichmann (41), Osborne (32), Hopkins (42), Osborne und Campbell (43). Dieselben sollen in dieser Monographie später noch Berücksichtigung finden.

Nach den Angaben von Panormoff (39c) soll auch aus Taubeneiern sich krystallinisches Albumin (Columbinin) gewinnen lassen. Verfasser hat sich mehrfach vergeblich bemüht (auch nach dem Säureverfahren) diese Krystalle zu erhalten. Auch bei Gänseeiern erhielt ich stets negative Ergebnisse.

II. Krystallisirtes Serumalbumin.

Aehnlich wie beim Eierweiss liegen die Verhältnisse beim Pferdeblutserum, wie zuerst durch Gürber (44) und seinen Schüler Michel (45) festgestellt wurde. Fällt man aus Pferdeserum (durch Centrifugiren oder spontanes Sedimentiren des defibrinirten oder durch Zusatz von Ammonoxalat ungerinnbar gemachten Blutes gewonnen) das Fibrinogen und Globulin durch Zusatz des gleichen Volumens einer concentrirten Ammonsulfatlösung aus und versetzt das Filtrat mit Ammonsulfatlösung bis zur beginnenden Trübung, so krystallisirt in wenigen Stunden, falls das betreffende Blut sich zur Krystallisation überhaupt eignet, eine reichliche Menge bis millimetergrosser Krystalle aus, die sich in dichter Schicht am Boden ansammeln. Die Krystalle lassen sich leicht in derselben Weise umkrystallisiren, wobei sie jedoch jedesmal kleiner werden. Nach 4—5maligem Umkrystallisiren werden die Abscheidungen in der Regel amorph. Die Gürber'schen Albumin-krystalle sind mit Sicherheit nur aus Pferdeblut darstellbar. Nach

39) A. Panormoff, a) Zusammensetzung des Eiereiweiss. Chem. Centralbl., Bd. 1, 1897, S. 478. — b) Die Albumine des Hühnereiweisses. Ebenda 1898, Bd. 2, S. 487. (Vorwiegend eine Untersuchung der optischen Constanten.) — c) Die Albumine des Taubeneies. Maly's Jahresbericht, 1897, S. 4, 1898, S. 8.

40) F. Umber, Die Spaltung des krystallinischen Eier- und Serumalbumins, sowie des Serumglobulins durch Pepsinverdauung. Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 25, 1898, S. 258.

41) A. Wichmann, Ueber die Krystallformen der Albumine. Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 27, 1899, S. 575—593. Enthält Angaben über Versuche von Pekelharing, in welchen nach Hopkins u. Pinkus auch aus käuflichem Eieralbumin Krystalle erhalten wurden.

42) F. G. Hopkins, On the separation of a pure albumin from egg-white. Journ. of Physiol., Vol. 25, 4, 1900, p. 306—330.

43) Th. B. Osborne and S. F. Campbell, The protein constituents of egg-white. Journ. of the Americ. Chemic. Soc., Vol. 22, p. 422.

44) A. Gürber, Krystallisation des Serumalbumins. Sitzungsber. d. Physik. med. Ges. zu Würzburg, 1894, S. 143—146.

45) A. Michel, Zur Kenntniss der Gürber'schen Serumalbuminkrystalle. (Mit einem Nachtrag von A. Gürber.) Verh. d. Physik. med. Ges. zu Würzburg, Bd. 29, No. 3, S. 28.

Gürber sollen dieselben bisweilen auch aus Kaninchenserum erhalten werden können. Krieger (30) hat jedoch diesen Befund nicht bestätigen können. Auch Verf. hat trotz vielfacher Bemühungen nie ein krystallisirendes Albumin aus Kaninchenserum erhalten können. Auch bei allen übrigen bisher untersuchten Blutarten (Hund, Katze, Ochs, Schwein, Hammel, Gans [von mir untersucht]) fielen die Versuche völlig negativ aus*). Aber auch bei Pferdeserum versagt das von Gürber angegebene Darstellungsverfahren häufig (ca. $\frac{1}{4}$ der Fälle); nimmt man dagegen nach Krieger die Ausfällung bei durch Schwefelsäure saurer Reaktion vor, so gelingt es (wie Krieger angiebt) stets, dieses krystallisirende Albumin im Serum nachzuweisen. Allerdings ist die Ausbeute an Krystallen und ihre Reinheit eine wechselnde. Mir fehlen eigene Erfahrungen über die Anwendung des Säureverfahrens auf das Pferdeserum. Es sei hervorgehoben, dass aus dem Serum des Kaninchens (Krieger, Verf.) sowie der Gans (Verf.) auch nach dem Säureverfahren keine Albuminkrystalle erhalten werden können. Kurze Angaben über die Krystallisation von Pferdeserumalbumin finden sich in den Arbeiten von Meyer (46), Verf. (38), Middeldorf (47), Wichmann (40), die sich im Uebrigen mit später zu besprechenden Eigenschaften des krystallisirten Serumalbumins beschäftigen.

Es ist auffallend, dass bisher Angaben über Krystallisation thierischer Globuline fehlen, während doch im Pflanzenreich gerade die globulinartigen Proteine ein gutes Krystallisationsvermögen besitzen. Auch mir ist es trotz vielfacher Versuche nicht gelungen, ein thierisches Globulin zur Krystallisation zu bringen. Meine Versuche bezogen sich im wesentlichen auf das Globulin verschiedener Blutarten (Pferd, Rind, Hund, Kaninchen, Gans). Bei vorsichtigem Aussalzen erhält man mit Leichtigkeit schöne Kugeln (Globulithen, Sphärolithen), aber diese Kugeln lassen sich nicht in echte Krystalle überführen, weder beim Ausfällen mit neutralem Ammonsulfat, noch mit durch Schwefelsäure oder Essigsäure angesäuertem. Damit stimmt die Beobachtung von Bondzynski und Zoja (36, S. 13) überein, sowie eine ältere Mittheilung von Drechsel (48), welcher beim Dialysiren

46) G. Meyer, Weitere Beiträge zur Kenntniss des Serumweiß. Diss. Würzburg 1896.

47) E. Middeldorf, Ueber den Schwefel der Serumalbuminkrystalle und deren Verdauungsproducte. Diss. Würzburg 1898; s. auch Verh. d. Physik.-med. Ges. Würzburg, 1898, No. 9.

48) Drechsel, Artikel „Eiweiß“ in: Ladenburg's Realencyklopädie, S. 555.

*) Gruzewska gibt an, dass man aus dem Oxalatplasma von Meerschwein, Katze, Ochs, Natter Albuminkrystalle erhalten könne durch Abkühlung des mit Ammonsulfat halbgesättigten Plasma auf -1° während 24 Std. und darauf folgendes Einbringen in Zimmertemperatur. Compt. rend., Bd. 128, 1899, S. 1535—1537.

einer Lösung von Globulin in verdünnter schwefelsaurer Magnesia gegen eine mit festem Salz versetzte Lösung von Magnesiumsulfat die Ausscheidung eines feinen, schlammigen Niederschlages beobachtete, der sich unter dem Mikroskop als aus lauter kleinen, durchsichtigen Scheibchen bestehend erwies*).

Hier sei auch noch erwähnt, dass L. Zoja (35, S. 15) aus einem eiweissreichen Harn eines Nephritikers das Albumin durch Ammonsulfat ebenfalls in Form der oft erwähnten Sphären erhalten hat. (Nähere Angaben fehlen.)

III. Verschiedene gelegentliche Befunde über Krystallisation ursprünglich gelöster Eiweissstoffe.

Ehe ich zur Besprechung der Krystalle des Blutfarbstoffes (Hämoglobin) übergehe, seien noch einige Beobachtungen über künstliche Krystallisation ursprünglich gelöster thierischer Eiweissstoffe mitgeteilt, welche, vorläufig wenigstens, mehr von theoretischem Interesse sind und für die Erforschung der Eiweissstoffe von geringerer Bedeutung sein dürften.

a) Krystallinische Heteroalbumose des Harns.

Byrom-Bramwell und Noël Paton (49) beobachteten einen Harn, der reichliche Mengen eines eigenthümlichen Eiweisskörpers enthält. Beim Aufbewahren schied der Harn in der Regel den Eiweisskörper krystallinisch ab, manchmal schon nach 1—2 Tagen, manchmal erst nach Wochen und Monaten. Er bildete dann ein seidenglänzendes Sediment, das aus mikroskopisch rhombischen Säulen bestand. Nach Noël Paton konnte der Eiweisskörper auch ausserhalb des Harns zur Krystallisation gebracht werden, wenn der frische Harn mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung vermischt, der entstandene Niederschlag mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung gewaschen und in einem Pergamentschlauch, nach Zusatz von etwas Thymol, erst 3 Tage gegen fliessendes Wasser, dann noch 48 Stunden gegen oft gewechseltes destillirtes Wasser dialysirt wurde (zum Theil wörtlich nach Huppert, 50). Noël Paton zählte diesen Eiweiss-

49) Byrom-Bramwell and D. Noël Paton, On a crystalline globulin occurring in human urin. Reports from the Laboratory of the R. Coll. of Physicians, Edinburgh, Vol. 4, 1892, p. 47; s. auch Proc. of Roy. Soc. Edinburgh, 1892, p. 102—115.

50) H. Huppert, Analyse des Harns, 1898, S. 490.

*) In einer soeben erschienenen Arbeit (Beiträge zur Kenntniss der Eiweisskörper, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 32, 1901, S. 361) spricht Jolles von „krystallisiertem Serumglobulin“ (aus Pferdeblut). Die kurze Angabe der Darstellungsweise hat mich nicht davon überzeugt, dass Jolles gelungen ist, was anderen bisher fehlgeschlug.

körper zu den Globulinen, Huppert (51) bezeichnet denselben neuerdings als Heteroalbumose des Harns. Es ist hier nicht der Ort, auf diese Frage einzugehen.

Der von Huppert mit dieser „Heteroalbumose“ des Harns auf eine Stufe gestellte „Bence-Jones'sche Eiweisskörper“ des Harns wurde einmal von Magnus Levy (Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 30, 1900, S. 216) durch monatelanges Stehen mit einer zu ca. 40 Volumprocent gesättigten Ammonsulfatlösung in schön ausgebildeten Krystallen erhalten, die sich auch umkrystallisiren liessen. Eine Wiederholung des Versuchs gelang nicht.

b) Krystallisirtes Laktalbumin.

Wichmann (41, S. 591) machte kürzlich die Angabe, dass sich das nach Sebelien (52) dargestellte Albumin der Milch, nach der von Gürber (44, 45) für das Serumalbumin gegebenen Vorschrift behandelt, in deutlichen, wenn auch nur kleinen Krystallen erhalten lasse.

c) Krystallinisches Casein.

Aus einer Lösung von Casein, die mit $\frac{1}{4}$ Vol. Magnesiamixtur versetzt wird, scheiden sich beim Stehen Globuliten ab, die nach einiger Zeit (mehrere Wochen) zu meist radiären Nadeln zerfallen. Das Vitellin aus Eigelb verhält sich ähnlich. Die Menge der so erhaltbaren krystallinischen Gebilde ist sehr gering, so dass Moraczewski (53) eine genauere Untersuchung bisher nicht vornehmen konnte.

d) Krystallinisches Fibrin.

Aus Heilserum (Pferd, Rind) scheidet sich bei längerem Stehen ein krystallinischer Niederschlag aus, den Maillard (54a) nach Löslichkeit und mikrochemischen Reactionen für ein „krystallinisches Fibrin“ angesprochen hat. Dzierzowski (54b), der diesen Niederschlag schon vorher beschrieben hatte, zeigte neuerdings, dass derselbe aus 4 verschiedenen Körpern besteht: 1) dem Kalksalz der höheren

51) H. Huppert (s. auch 50), Ueber einen Fall von Albumosurie. Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 22, 1897, S. 500—507.

52) J. Sebelien, Beitrag zur Kenntniss der Eiweisskörper der Kuhmilch Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 9, 1885, S. 445—464.

53) Moraczewski, a) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 21, 1895, S. 71. Casein. — b) Ebenda, Bd. 25, 1898, S. 252. Vitellin.

54) a) Maillard, Ueber ein krystallinisches Fibrin. C. r. d. l'Acad. d. Sciences, T. 128, 1899, p. 373—375, und Bull. Soc. chim. Paris, (3) T. 21, 1899, p. 239—241.

b) Dzierzowski, a) Wratsch, 1896, No. 51 (russisch). — b) Zur Frage über das krystallinische Fibrin. Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 28, 1899, S. 64—72.



Fettsäuren, 2) Glycerin- und Cholesterinestern dieser Fettsäuren, 3) aus einem fibrinähnlichen Körper, 4) aus Nuclein. Die krystallinische Structur soll durch die Fettsäuren bzw. ihre Derivate bedingt sein. Es handelt sich also anscheinend gar nicht um Eiweisskrystalle.

e) Krystallisirtes Propepton.

Schmidt-Mülheim (55) will das Propepton (ein Gemenge der heute unter dem Namen Albumosen zusammengefassten Verdauungsproducte des Eiweisses) in einfacher Weise krystallisirt haben, indem er das durch Salpetersäure aus seiner Lösung gefällte Propepton, welches eine starke Neigung besitzt, an den Wandungen des Gefässes anzuhaften, einfach mit Alkohol schüttelte. Er will so in kürzester Frist prachttvolle, durchsichtige, cubische Krystalloide von 0,5—1 mm Grösse erhalten haben. Beim Verdunsten des Alkohols trüben sie sich, quellen auf und zerfallen in stark lichtbrechende Tafeln und Kugeln. An dieser Stelle erwähnt er, dass es Drechsel (worüber noch nichts veröffentlicht sei) gelungen sei, auch das Pepton krystallinisch darzustellen. Eine Veröffentlichung Drechsel's in diesem Sinne ist meines Wissens auch später nicht erfolgt. Diese namentlich zu einer Zeit, wo künstliche Krystallisation von Eiweiss noch kaum gekannt war, bedeutungsvolle Mittheilung hat weder Nachprüfung noch überhaupt Beachtung gefunden. Der Gedanke, dass es sich um eine Täuschung gehandelt hat, liegt nahe.

f) Krystallisirte Albumosen.

Aehnlich ist es den Angaben Schroetter's (56) über Darstellung krystallinischer Albumosen gegangen. Schroetter hat durch ein im Original nachzusehendes Verfahren eine Albumose isolirt, welche aus heissem Methylalkohol sich beim Erkalten als weisses krystallinisches, aus Nadeln bestehendes Pulver abschied. Da die Albumosen als Stoffe mit kleinerem Molekül als die gewöhnlichen unverdauten Eiweisskörper, falls eine Reindarstellung möglich, der chemischen Erforschung wesentlich leichtere Probleme darbieten dürften, so wäre die Möglichkeit der Beschaffung einer krystallisirten Albumose von grösster Bedeutung für die Eiweisschemie. Trotzdem hat weder Schroetter noch irgend ein anderer diese schon vor 7 Jahren gemachte Beobach-

55) Schmidt-Mülheim, Weitere Beiträge zur Kenntniss des Propeptons. Jahresber. d. Thierarzneischule in Hannover 1879/80.

56) H. Schroetter, Beiträge zur Kenntniss der Albumosen. a) Monatsh. d. Chemie, Bd. 14, 1893, S. 612—623; b) ebenda Bd. 16, 1895, S. 609—618; c) ebenda Bd. 17, 1896, S. 199—205.

tung verwerthet. Auch ein krystallinisches Acetylderivat der Albumose wird erwähnt (56 c).

g) Krystallisirtes Hyalin.

In den Zellen eines in 2-proc. Formalin gehärteten Melanosarkoms, die ohne weitere Vorbereitung nirgends krystallinische Bildungen zeigten, beobachtete Browicz (57) bei Zusatz von 10-proc. Salpetersäure nach einiger Zeit das Auftreten scharfeckiger und scharfkantiger Krystalle. Dieselben lagen im Cytoplasma der Zellen einzeln oder mehrere parallel nebeneinander gelagert. Die Krystalle waren zum Theil prismatische Stäbe, zum Theil schöne sechsseitige Platten. „Dieselben boten die optischen Eigenschaften derjenigen Substanz, die man überhaupt Hyalin nennt, erschienen etwas gelblich, färbten sich mit saurem Fuchsin.“ Browicz schliesst aus seinen Beobachtungen, „dass das Hyalin, jedenfalls eine Eiweissabart, mit der Salpetersäure eine krystallisationsfähige Verbindung eingegangen ist“. Die Annahme, dass es sich thatsächlich um Krystalle von Hyalin, bezw. einer Hyalinverbindung gehandelt hat, bedarf noch weiterer Begründung; die Färbbarkeit mit Fuchsin allein genügt nicht.

h) Krystallinische Säure aus Albumose.

Schroetter (58) erhielt durch Einwirkung von Natriumnitrit und Schwefelsäure auf „Witte-Pepton“ eine in 60-proc. heissem Alkohol lösliche Säure, die sich beim Erkalten als „deutlich krystallinischer“ Niederschlag abschied. Dieselbe stellt nach Schroetter einen Abkömmling einer Albumose dar und ist vergleichbar mit der Oxyprotosulfonsäure Maly's; sie dürfte immerhin noch als eiweissähnliche Substanz aufzufassen sein.

IV. Blutfarbstoffkrystalle und Verwandtes.

Ich wende mich nun zu einer weiteren Gruppe von krystallisirbaren Eiweissstoffen, die im wesentlichen den rothen Blutfarbstoff, das Hä moglobin umfasst. Der Blutfarbstoff stellt bekanntlich eine Vereinigung eines Eiweisskörpers (des Globins) mit dem Hämatin, einem Farbstoff, dar. Es ist gerechtfertigt, diesen in schönster Weise krystallisirbaren Stoff getrennt von den übrigen Eiweisskrystallen zu besprechen, da es sich von vornherein nicht entscheiden lässt, ob die leichte Krystallisirbarkeit auf Rechnung der Farbstoffkomponente oder

57) Browicz, Krystallisirbarkeit des Hyalins in der Sarkomzelle. Bull. de l'Acad. d. Sciences de Cracovie, Juni 1899, p. 282—284.

58) H. Schroetter, Beiträge zur Kenntniss der Albumosen. Monatsh. d. Chem., Bd. 19, 1898, S. 211—222.

des Eiweissantheils zu setzen ist. In dieser Ueberlegung liegt auch der Grund, weshalb die Beobachtungen am Hämoglobin nicht schon früher auf andere Eiweisskörper ausgedehnt sind. Obschon bereits vor über 50 Jahren die Krystallisationsfähigkeit des Hämoglobins festgestellt war, hielt man doch bis in die neuere Zeit hinein daran fest, dass gerade die Nichtkrystallisirbarkeit eine spezifische Eigenschaft des Eiweisses sei.

Was die Hämoglobinkrystalle von den bisher erwähnten Eiweisskrystallen unterscheidet, ist ihre Farbe, die, wie schon hervorgehoben, durch das Hämatin bedingt ist. Die Hämoglobinkrystalle sind nicht die einzigen Eiweisskrystalle, denen diese Eigenschaft zukommt, sondern wir besitzen hierfür Analogien in dem Auftreten krystallisationsfähiger, gefärbter Eiweisskörper im Pflanzenreiche.

a) Gefärbte pflanzliche Eiweisskrystalle.

Die Rhodophyceen oder Florideen, rothe Meeresalgen, enthalten einen rothen Farbstoff, das Phycoerythrin; die Cyanophyceen, blaugüne Algen, verdanken ihre Farbe einem anscheinend analogen blauen Farbstoff, dem Phycocyan. Ausser diesen beiden Farbstoffen ist bei den Florideen noch ein dritter, das Rhodospermin, beschrieben, der aber nach den Untersuchungen von Molisch (63a, S. 186) zum Theil aus krystallinischem Phycoerythrin, zum Theil aus farblosen Eiweisskrystalloiden besteht. Molisch wünscht daher, den Namen Rhodospermin aus der Litteratur zu entfernen. Ueber diese Farbstoffe bezw. ihre Krystalle liegen eine Anzahl von Arbeiten vor von Cramer (59), Cohn (60), Klein (61), Schimper (3a), Hansen (62) und Molisch (63). Molisch, der sich zuletzt mit diesen Farbstoffen beschäftigte, zeigte, dass dieselben durch Ammonsulfat in ganz ähnlicher Weise, wie nach Hofmeister das Eieralbumin, in prächtigen Krystallen erhalten werden können. Die mit den Krystallen angestellten Reactionen lehren, dass es sich um einen

59) C. Cramer, Das Rhodospermin, ein krystallinischer, quellbarer Körper, im Zellinhalt verschiedener Florideen. Vierteljahrsschr. d. naturforsch. Ges. in Zürich, 1862, S. 350.

60) Fr. Cohn, Beiträge zur Physiologie der Phycochromaceen und Florideen. Arch. f. mikroskop. Anat. von M. Schultze, Bd. 3, 1, 1867.

61) J. Klein, Krystalloide einiger Florideen. Flora, 1871, S. 161. — Die Krystalloide der Meeresalgen. Pringsheim's Jahrb., Bd. 13, 1882, S. 54.

62) A. Hansen, Ueber Stoffbildung bei den Meeresalgen. Mitth. d. zool. Station Neapel, Bd. 11, 1893, S. 292.

63) H. Molisch, a) Das Phycoerythrin, seine Krystallisirbarkeit und chemische Natur. Botan. Zeitung, 1894, S. 177—189. — b) Das Phycocyan, ein krystallisirbarer Eiweisskörper. Ebenda 1895, S. 131—135.

farbigen Eiweisskörper handelt. „Ob das Florideenroth einen einfachen Eiweissstoff darstellt, oder einen complicirteren, bestehend aus der chemischen Verbindung eines Farbstoffes mit einem Eiweisskörper, analog dem Blutfarbstoff (Hämoglobin), lässt sich vorläufig, so lange wir nicht tiefer in die Chemie unseres Farbstoffes eingedrungen sind, nicht beantworten“ (Molisch).

Von besonderem Interesse, namentlich im Hinblick auf die beim Hämoglobin zu erörternden Fragen, sind nachfolgende Betrachtungen Molisch's: „Man könnte einwenden, dass möglicherweise das Florideenroth nicht als solches herauskrystallisirt, sondern dass irgend ein Eiweisskörper in Krystalloiden anschießt, der erst nachträglich das Phycoerythrin einfach speichert.“ (Es ist eine allgemein verbreitete Eigenschaft der Eiweissniederschläge, Farbstoffe aus der Mutterlauge in sich anzuhäufen.) „Die Unhaltbarkeit dieser Annahme geht aus folgenden Thatsachen hervor: 1) Ist jedes Krystalloid gleich zu Beginn seines Entstehens, d. h. schon als Pünktchen, roth gefärbt. Niemals ist unter den Tausenden postmortal entstandenen Krystalloiden der Präparate ein farbloses zu bemerken. Gleich grosse Krystalloide zeigen stets die gleiche Färbungsintensität. 2) Tritt nie ein Krystalloid auf, wenn der Farbstoff durch irgend ein Mittel (Licht, Säuren, Alkalien etc.) verändert wird. 3) Ist es mir gelungen, das Phycoerythrin sehr rein darzustellen, ausserhalb der Pflanze zum Krystallisiren zu bringen und nachzuweisen, dass die aus Farblösungen erhaltenen Krystalloide mit den in den Geweben entstehenden übereinstimmen. 4) Wird Phycoerythrin von Hühnereiweiss, Ricinus und anderen Samenkrystalloiden selbst bei tagelangem Contacte nicht gespeichert. Die genannten Eiweisskörper bleiben darin farblos“. Gerade auf das letzte Argument möchte ich noch besonders aufmerksam machen (64).

64) Die Darstellung der Phycoerythrinkrystalle kann nach folgender Vorschrift geschehen (Molisch, 63a, S. 183): Florideenrothlösung (hergestellt durch Extrahiren der Algen, z. B. *Nitophyllum punctatum*, mit destillirtem Wasser bei 35° im Finstern [24 Stunden] und Filtration) mit gerade so viel Alkohol abs. versetzt, bis die Fluorescenz verschwindet. Binnen 24 Stunden fällt alles Phycoerythrin amorph aus. Niederschlag in Wasser gelöst; Lösung nochmals mit Alkohol gefällt. Niederschlag wieder in Wasser gelöst; karminrothe, stark orange fluorescirende Flüssigkeit. Ein Tropfen auf dem Objectträger verdunstet: namentlich am Rande Ausscheidung rother Krystalloide. Setzt man zu der Lösung Magnesiumsulfat oder Ammonsulfat und lässt im Dunkeln spontan verdunsten, so scheidet sich bei gewisser Concentration das Phycoerythrin in prismatischen oder nadelförmigen Einzelkrystallen oder sternartigen Aggregaten derselben aus.

Besondere Beachtung verdient es, dass bei in Meerwasser oder 10-proc. NaCl-Lösung abgestorbenen Algen spontan Phocoerythrin auskrystallisirt, während aus künstlichen Phycoerythrinlösungen durch Kochsalz keine Abscheidung des Farbstoffes bewirkt wird.

b) Hämoglobinkrystalle.

Ueber Krystallisation des Blutfarbstoffes liegt eine ausserordentlich umfangreiche Litteratur vor. Ich muss mich hier im Wesentlichen auf die Mittheilung der Daten über die Krystallisation beschränken, die methodisches Interesse haben oder für unsere Auffassung von der Natur der Eiweisskrystalle von Wichtigkeit sind. Ich kann dies um so eher thun, da auffallender Weise das Hämoglobin bisher fast ausschliesslich zu Studien über die Farbstoffcomponente, welche auch die Sauerstoffübertragung vermittelt, benutzt worden ist, während der Eiweissantheil, obschon er ca. 95 Proc. des Blutfarbstoffes ausmacht, fast vollständig vernachlässigt worden ist.

b 1. Vorkommen von Hämoglobinkrystallen.

Der Blutfarbstoff, das Hämoglobin (Hämatoglobulin, Hämoglobulin, Hämatokrystallin, Hämokrystallin, Hämoglobin sind Bezeichnungen älterer Autoren), welcher die rothe Farbe des Blutes der Wirbelthiere bedingt, findet sich bei allen Wirbelthieren mit alleiniger Ausnahme des *Amphioxus*. Dieser Umstand bewog Hoppe-Seyler (65) sogar mit dazu, die Zurechnung des *Amphioxus* zu den Wirbelthieren für unberechtigt zu erklären.

Ausser bei den Wirbelthieren ist Hämoglobin auch bei einer Anzahl wirbelloser Thiere nachgewiesen worden; während dasselbe jedoch bei ersteren nicht frei im Plasma, sondern in den Blutkörperchen enthalten ist, ist bei den wirbellosen Thieren das Hämoglobin meist in der Blutflüssigkeit gelöst, auch wenn in dem betreffenden Blute zellige Elemente sich befinden, welche mit den Blutkörperchen vergleichbar sind.

Der rothe Blutfarbstoff besitzt eine für einen Eiweisskörper ausgezeichnete Fähigkeit zu krystallisiren. Neben dieser Krystallisationsfähigkeit haben wir für den Nachweis ein vortreffliches Mittel in dem Verhalten gegenüber dem Spectrum, sowie in der Darstellung krystallinischer Umwandlungsproducte der Farbstoffcomponente des Hämoglobins. Während aber das Hämoglobin, ganz gleichgültig woher dasselbe gewonnen ist, ob von einem Wirbelthier oder von einem Wirbellosen, vom Pferd oder von der Gans, immer genau dasselbe Verhalten gegenüber dem Spectrum zeigt, sowie bei Spaltungen immer denselben Farbstoff liefert, treten in Bezug auf die Krystallbildung grosse Verschiedenheiten auf. Während einzelne Blutarten, z. B. die vom Meer-schweinchen, schon beim einfachen Eindicken mit Leichtigkeit Krystalle

65) F. Hoppe-Seyler, Ueber Unterschiede im chemischen Bau und der Verdauung höherer und niederer Thiere. Pflüger's Archiv, Bd. 14, 1876, S. 395—400.

in schönster Ausbildung liefern, bedarf es bei anderen Blutarten complicirter Methoden, um derartige Gebilde darzustellen. Aber auch in der Form der Krystalle variiren die einzelnen Blutarten ausserordentlich, und zwar so, dass in den meisten Fällen die Form für die betreffende Art charakteristisch ist. So lassen sich das Blut von Mensch, Pferd, Hund, Eichhörnchen, Meerschweinchen, Gans mit Leichtigkeit schon aus der Krystallform von einander unterscheiden. Bei allen Wirbelthieren, die systematisch darauf untersucht wurden, konnte, wenn auch oft schwer, das Hämoglobin krystallinisch dargestellt werden. Für das Blut der Wirbellosen finden sich nur wenige Angaben über Darstellung von Krystallen des meist spektroskopisch nachgewiesenen Blutfarbstoffes. Die Gerinnung stösst hier auf wesentlich grössere Schwierigkeiten, da die Concentration an Hämoglobin eine vielmals geringere ist, wie bei den Wirbelthieren. Nach einer von Preyer (66) gegebenen Zusammenstellung sind Hämoglobinkrystalle dargestellt von: Mensch, Affe, Fledermaus, Igel, Maulwurf, Katze, Löwe, Cugar, Fuchs, Iltis, Hund, Meerschweinchen, Eichhörnchen, Maus, Ratte, Kaninchen, Hamster, Murmelthier, Pferd, Schaf, Rind, Schwein; — Steinkauz, Rabe, Krähe, Haubenlerche, Sperling, Taube, Hausgans; — Lacerte, Schildkröte, Reisschlange, Riesenschlange, Frosch; — Döbel, Karpfen, Rothauge, Barbe, Güster, Schleihe, Flussbrasse, Flussbarsch, Häring, Scholle, Hecht, Hornfisch. Von wirbellosen Thieren waren zur Zeit der Preyer'schen Monographie (1871) nur bei Regenwurm (*Lumbricus terrestris*) und Rossegel (*Nephele*) Krystalle beobachtet. Die Reihe dieser schon Preyer bekannten Beobachtungen wurde später nur wenig erweitert. Jaquet (67) stellte grössere Mengen von Hämoglobinkrystallen aus Hühnerblut dar; auch aus Lachsblut konnten Krystalle erhalten werden, jedoch nicht direct, sondern erst nachdem das Blut, in Röhren eingeschlossen, gefault war. Von wirbellosen Thieren hat Eisig (68) mit Erfolg das Blut der Capitelliden auf Hämoglobinkrystalle verarbeitet. Ueber die Form der Krystalle sei hier nur bemerkt, dass alle Hämoglobinarten im rhombischen System krystallisiren, mit Ausnahme des Eichhörnchenblutes, dessen Hämoglobin hexagonale Prismen darstellt.

66) W. Preyer, Die Blutkrystalle. Jena Mauke's Verlag, 1871. In dieser 263 Seiten umfassenden Monographie gibt Preyer eine vollständige Zusammenstellung der damals vorliegenden Litteratur, sowie seiner zahlreichen eigenen Beobachtungen.

67) A. Jaquet, Beiträge zur Kenntniss des Blutfarbstoffs. a) Diss. Basel 1889, 26 SS; b) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 14, 1889, S. 289—296.

68) Hugo Eisig, Fauna und Flora des Golfs von Neapel. Herausgegeben von der zoolog. Station in Neapel. XVI. Monographie: Die Capitelliden, 2 Bde., 1887.

b 2. Historisches über Hämoglobinkrystalle.

Bei der leichten Krystallisirbarkeit, die dem Hämoglobin, namentlich einzelner Blutarten, zukommt, ist es begreiflich, dass die Entdeckung von Hämoglobinkrystallen schon lange Zeit zurückliegt. Die älteste Angabe findet sich 1840 in dem Buche von Hünefeld (69), „Der Chemismus in der thierischen Organisation“, welcher in Blut, das zwischen Glasplatten eingetrocknet war, tafelförmige, hellrothe krystallinische Ausscheidungen beobachtete. Der eigentliche Entdecker der Blutkrystalle ist Reichert (70), welcher 1847 auf der Oberfläche des Mutterkuchens eines fast ausgetragenen Meerschweinchens und auf der an die Placenta angrenzenden Schleimhaut der Gebärmutter des Mutterthiers rothe Krystalle beobachtete, die in ihrer Form durchaus übereinstimmten mit den später von Anderen (1852 Kunde, 71) aus dem Meerschweinchenblut dargestellten Farbstoffkrystallen. Reichert erkannte die Eiweissnatur dieser Krystalle und nannte sie Albuminatkrystalle, in der Annahme, dass die Färbung von einem beigemengten Pigment herrühre. Ungefähr in derselben Zeit wurden von Kölliker (72), Leydig (73), Budge (74) hierher gehörige Beobachtungen gemacht, ohne weiter verfolgt zu werden. Otto Funke (75) [1851] würdigte zuerst die Bedeutung der Blutkrystalle und stellte dieselben künstlich dar aus dem Milzvenenblute des Pferdes. Besondere Verdienste um die Erforschung der Hämoglobinkrystalle hat sich auch C. G. Lehmann (76) [1852/53] erworben, der zuerst eine Methode ausarbeitete, um grössere

69) F. L. Hünefeld, *Der Chemismus in der thierischen Organisation*, Leipzig, F. A. Brockhaus Verlag, 1840.

70) B. Reichert, a) Beobachtungen über eine eiweissartige Substanz in Krystallform. *Archiv f. Anat. u. Physiologie*, 1849, S. 197. — b) Meerschweinchenblutkrystalle. *Ebenda*, 1852, S. 71.

71) F. Kunde, *Ueber Krystallbildung im Blute*. *Zeitschr. f. rationelle Med.*, N. F. Bd. 2, 1852, S. 271—287.

72) A. Kölliker, *Zeitschr. f. wissenschaftl. Zool.*, Bd. 1, 1849, S. 116.

73) F. Leydig, *Zur Anatomie von Piscicola geometrica*. *Zeitschr. f. wiss. Zoologie*, Bd. 1, 1849, S. 266.

74) Budge, *Menschliche Blutkrystalle in Blutegeln*. *Kölnische Zeitung*, 1850, No. 300.

75) O. Funke, a) *Ueber das Milzvenenblut*. *Zeitschr. f. ration. Medicin*, N. F. Bd. 1, 1851, S. 172—218. — b) *Neue Beobachtungen über das Milzvenen- u. Fischblut*. *Ebenda*, Bd. 2, 1852, S. 198—217. — c) *Ueber Blutkrystallisation*. *Ebenda*, Bd. 2, 1852, S. 288—292. — d) *Atlas der physiolog. Chemie*, 2. Aufl., Leipzig 1858, Tafel 9 u. 10. — e) *Lehrbuch der Physiologie*, Theil I, 3. Aufl., 1860, S. 36—40.

76) C. G. Lehmann, a) *Krystallisirbarkeit der Hauptbestandtheile der Blutkörperchen*. *Journal f. prakt. Chemie*, Bd. 56, 1852, S. 65—58. — b) *Weitere Mittheilungen hierüber*. *Ebenda*, Bd. 58, 1853, S. 95—102; Bd. 59, 1853, S. 413—446. — c) *Handbuch der physiolog. Chemie*, 2. Aufl., 1859, S. 182—186.

Mengen von Hämoglobinkrystallen zur makrochemischen Untersuchung zu gewinnen. Die von Lehmann ausgeübte Methode musste jedoch anderen, namentlich der Hoppe-Seyler'schen (77) weichen, hauptsächlich weil es Lehmann nicht gelang nach seiner Methode, die erhaltenen Krystalle umzukrystallisiren. Nach diesen grundlegenden Arbeiten von Funke und Lehmann häuften sich die Untersuchungen des Blutrothes, und viele Namen knüpfen sich an die fernere Geschichte dieses Stoffes an (78). Trotzdem hat, wie schon erwähnt, die Eiweisscomponente des Hämoglobins nur selten Interesse gefunden, und ist unsere Kenntniss über die Natur der Eiweissstoffe durch die Erschliessung dieses krystallisationsfähigen Vertreters nicht wesentlich gefördert worden.

Die geringe Beachtung, die dem Hämoglobin nach dieser Richtung hin zu Theil geworden ist, hat ihren Grund nicht etwa, wie man erwarten könnte, in einer Unvollkommenheit der Krystallisationsmethoden, die, wie wir sehen werden, schon seit lange in genügender Weise ausgebildet sind.

b 3. Methoden zur Darstellung von Hämoglobinkrystallen.

Preyer (66) zählt in seiner Monographie 5 verschiedene Methoden zur Darstellung von Hämoglobinkrystallen auf; dieselben gehen, wie auch alle späteren, zunächst darauf aus, die rothen Blutkörperchen aufzulösen und dadurch den Farbstoff (das Hämoglobin) frei zu machen. Die Verschiedenheiten der zahlreichen Methoden beruhen einmal in den zur Auflösung der rothen Blutkörperchen angewandten Mitteln; sodann aber in den zur Abscheidung des gelösten Blutfarbstoffes ersonnenen Verfahren.

Die älteste von Lehmann (66 b) angegebene Methode beruhte darauf, dass Blutkuchen, von Serum befreit, mit Wasser extrahirt wurde. Dadurch werden die Blutkörperchen zerstört, und der Farbstoff geht in den wässerigen Extract. Durch diesen wässerigen Auszug wird zuerst $\frac{1}{2}$ Stunde Sauerstoff, dann $\frac{1}{4}$ Stunde CO_2 hindurch-

77) F. Hoppe-Seyler, Beitr. zur Kenntniss des Blutes des Menschen und der Wirbelthiere. Medic.-chem. Untersuchungen, Heft 2, 1867, S. 181—185.

78) In der neuesten Auflage von Bunge's Lehrbuch der physiol. Chemie (4. Aufl., 1898, S. 58, Anm. 3) steht: „Der Entdecker der Hämoglobinkrystalle ist A. Boettcher, und die ersten Analysen wurden von . . . Carl Schmidt in Dorpat ausgeführt, s. A. Boettcher, Ueber Blutkrystalle, Dorpat 1862.“ Als Boettcher's Untersuchungen 1862 erschienen (mit Analysen von C. Schmidt), existirte bereits eine umfangreiche Litteratur über die Krystalle der Blutfarbstoffe (s. vorher!), und hatte Lehmann schon längst zahlreiche Analysen derselben ausgeführt. Die Befunde waren längst in die Lehrbücher, z. B. das von Lehmann übergegangen.

geleitet. Bei den Blutarten, die sich überhaupt zu einer derartigen Darstellung eignen (Meerschweinchen, Ratte, Maus), tritt dann in kurzer Zeit eine reichliche Ausscheidung von Blutkrystallen ein. Es sind dies diejenigen Blutarten, deren Hämoglobin besonders schwer löslich ist. Bei anderen Blutarten (z. B. Hund) mit leichter löslichem Hämoglobin kann unter sonst gleichen Verhältnissen eine Krystallisation erzielt werden, durch entsprechenden Zusatz von Alkohol. Die nach dem Verfahren von Lehmann erhaltenen Krystalle sind nicht rein, namentlich durch die anhaftenden Stromata verunreinigt. Ein Umkrystallisiren ist nicht angängig.

Um die beim Verfahren von Lehmann hinderliche Verdünnung zu vermeiden, benutzt Rollet (79) zur Auflösung der rothen Blutkörperchen eventuell wiederholtes, festes Einfrieren und Wiederauftauen des Blutkörperchenbreies, indem er denselben in Platinschalen in Kältemischung stellte.

Böttcher (80) injicirt einem chloroformirten Thiere intravenös grosse Mengen kaltes Wasser. Das aus dem Herzen und den Gefässen des dann zu Tode chloroformirten Thieres entnommene Blut ist sehr krystallisationsfähig.

Als Lösungsmittel für die Blutkörperchen empfahl W. Kühne (81) gallensaures Natron (glykocholsaures + taurocholsaures Natron). Bei dem langsam gerinnenden Pferdeblut wurde der vom Plasma durch Sedimentiren abgetrennte Blutkörperchenbrei mit 0,5-proc. wässriger Lösung von krystallisirter Rindergalle aufgelöst und dann erst zur Gerinnung gebracht, wobei das Fibringerinnsel nur die nicht gelösten Blutkörperchen einschliesst. Die erhaltene Blutfarbstofflösung wird mit schwach essigsaurem Alkohol versetzt bis zum Beginn der Ausscheidung. Im Verlauf von einigen Stunden erfolgt dann reichliche Krystallisation. Die Krystalle lassen sich in analoger Weise umkrystallisiren. Die Methode ist umständlich, der Zusatz von Galle, sowie Essigsäure bedenklich. Für das rascher gerinnende Hundeblood hat Kühne dies Verfahren modificirt.

Die bisher genannten Verfahren sind verdrängt worden durch die von Hoppe-Seyler (82) ausgearbeitete Methode. Dieselbe beruht auf einer combinirten Anwendung von Alkohol und Kälte. Zu einer abge-

79) A. Rollet, Versuche und Beobachtungen am Blut. Sitzungsber. d. Wiener Akademie d. Wiss., Bd. 46, 1863, 2. Abt., S. 65—68. Die Arbeit enthält krystallographische und optische Mittheilungen über die Blutkrystalle von V. v. Lang.

80) A. Boettcher, Ueber Blutkrystalle (Dorpat 1862, s. auch unten 78), enthält Analysen von C. Schmidt.

81) W. Kühne, Neue Methode zur Darstellung des Hämatokrystallins. Centralbl. f. d. med. Wissenschaft., 1863, S. 833—855.

82) Die erste Angabe findet sich l. c. 77. Mehrfache Modificationen und

kühlten Blutfarbstofflösung wird $\frac{1}{4}$ Vol. Alkohol hinzugegeben, dann erfolgt in Kältemischung reichliche Krystallisation. Hoppe-Seyler verwandte ursprünglich einfach defibrinirtes Blut und bewirkte die Lösung der Blutkörperchen, indem er das gleiche Volum destillirtes Wasser hinzusetzte. Hierbei bestand die Gefahr, dass die Eiweissstoffe des Serums ebenfalls durch Alkohol gefällt werden und daher das auskrystallisirende Oxyhämoglobin verunreinigen. Um diesem Uebelstande abzuhelpen, liess Preyer (66) das Blut erst coaguliren, zog aus dem durch Abwaschen vom anhaftenden Serum möglichst gereinigten Blutkuchen das Hämoglobin durch destillirtes Wasser aus und behandelte diese Lösung mit Alkohol in der Kälte. Später hat Hoppe-Seyler (83) empfohlen, die Blutkörperchen durch Auscentrifugiren und mehrfaches Waschen mit isotonischer (1-proc.) Chlornatriumlösung vom Serum und seinen Eiweissstoffen zu befreien. Auf diese Weise lässt sich die von Preyer angenommene ungünstige Wirkung der Serumeiweissstoffe völlig beseitigen. Nach einer Angabe von Mayet (84) ist es vorzuziehen, dass Auswaschen mit Natriumsulfatlösung (1,5 Proc. des wasserfreien Salzes), anstatt mit Chlornatriumlösung, vorzunehmen. Dieser Vorschlag ist jedoch von anderen Forschern bisher nicht zur Ausführung gebracht worden. Preyer hatte die Befürchtung ausgesprochen, dass durch den Alkohol neben Hämoglobin auch Serumeiweissstoffe als Verunreinigung mit niedergeschlagen werden. Durch sorgfältiges Auswaschen des Blutkörperchenbreies liesse sich diesem Uebelstande abhelfen. Zinoffski (85) hat darauf hingewiesen, dass aus dem Blutserum mit Alkohol in der Kälte unter den Bedingungen, welche zur Krystallisation des Hämoglobins verwandt werden, kein Eiweiss ausgefällt wird; eine sorgfältige Abtrennung des Serums von den Blutkörperchen sei daher überflüssig. Trotzdem wird ein wenigstens einmaliges Auswaschen mit isotonischer Kochsalzlösung zweckmässig sein, da bekanntlich durch Niederschläge lösliche Bestandtheile der Mutterlauge nicht nur mechanisch mit eingeschlossen, sondern vielfach auch mit niedergeschlagen werden. Eine weitere grosse Schwierigkeit beruht darauf, dass die Stromata, das Gerüst der rothen Blutkörperchen, sich ausserordentlich schwer von den Hämoglobinkrystallen abtrennen lassen, zumal da dieselben vielfach in die

Abänderungen sind aus den verschiedenen Auflagen der „Physiol.-chem. Analyse“ von Hoppe-Seyler zu ersehen.

83) Hoppe-Seyler, *Physiolog. Chemie*, 1879, S. 372—375.

84) Mayet, Verbesserung der Darstellung von krystall. Hämoglobin nach Hoppe-Seyler; neues Verfahren zur Darstellung dieses Körpers. *Comptes rendues*, T. 109, 1890, p. 156—158.

85) O. Zinoffsky, Ueber die Grösse des Hämoglobinmoleküls. *Zeitschr. f. physiol. Chemie*, Bd. 10, 1885, S. 16—34.

Krystalle eingeschlossen sind. Hoppe-Seyler (82 u. 83) hat zur Entfernung der Stromata empfohlen, die Hämoglobinlösung mit reichlich Aether zu schütteln. Trotz verschiedener später gemachter Vorschläge ist heute dieses Lösungsmittel noch allgemein in Anwendung, und mit Recht, denn die übrigen vorgeschlagenen Methoden haben gegenüber dem Aether keine wesentlichen Vortheile, sind aber meist weniger indifferent. Zinoffsky (85, S. 19) hat, einer mündlichen Mittheilung von A. Schmidt folgend, zur Lösung bezw. Aufquellung der Stromata eine verdünnte Ammoniaklösung empfohlen, die nachher mit verdünnter Salzsäure neutralisirt wird. Mit Baryt oder salzsaurem Protamin aus Lachssperma, oder, wie von Wooldridge (86) empfohlen wurde, mit saurem schwefelsaurem Natron ist es ebenfalls möglich, die Stromata zu fällen. Wie Hüfner (87) hervorgehoben hat, riskirt man bei der Anwendung von Ammoniak nach Zinoffsky, dass das ohnehin leicht zersetzbare Hämoglobin durch das Ammoniak angegriffen wird. Jaquet (88) beobachtete bei Hühnerblut, dass durch Anwendung von wenig Baryt die Krystallisation wesentlich beeinträchtigt wird, indem dann das Hämoglobin auf Zusatz von wenig Alkohol ($\frac{1}{10}$ Vol.) meist in amorphem Zustande ausfällt. Statt Aether können auch andere indifferente Lösungsmittel, wie Chloroform, Benzin in gleicher Weise verwandt werden. Bei der Benutzung von Benzin, soll sogar nach Mayet (84) die Krystallisation reichlich erfolgen. Da die Darstellung von Hämoglobinkrystallen somit eine heikle Arbeit ist, die mit Misserfolgen häufig verknüpft ist, thut man gut daran, bei dem alt bewährten Aether zu bleiben, bis reichlichere Erfahrungen über andere Lösungsmittel vorliegen (89).

Das Oxhämoglobin der verschiedenen Blutarten zeigt, wie schon erwähnt, ein ausserordentlich verschiedenes Krystallisationsvermögen. Dies ist zum Theil sicherlich darin begründet, dass die Hämoglobine verschiedener Abkunft sehr verschiedene Löslichkeit besitzen. Je löslicher ein Hämoglobin ist, um so schwerer lässt es sich durchweg zur Krystallisation bringen. Die Schwierigkeit lässt sich zum Theil beheben, wenn man mit einer möglichst concentrirten Hämoglobinlösung arbeitet. Während man zu den Blutkörperchen des Pferdeblutes ruhig das dreifache Volum Wasser hinzusetzen kann, ist es nach A b d e r-

86) Wooldridge, Zur Chemie der Blutkörperchen. Du Bois' Archiv, 1881.

87) Hüfner, Beitrag zur Lehre vom Blutfarbstoff. Beiträge zur Physiologie, Festschrift für C. Ludwig, 1887, S. 74—81.

88) A. Jaquet, Beiträge zur Kenntniss des Blutfarbstoffs, Diss. Basel, 1889, sowie Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 12, 1889, S. 285—288; Bd. 14, S. 289—296.

89) Das Hoppe-Seyler'sche Verfahren hat manche Wandlungen erfahren. Vorschriften finden sich in den verschiedenen Handbüchern, z. B. Hammarsten's physiolog. Chemie, 4. Aufl., 1899, S. 143.

halden (90) zweckmässig, bei Hundeblood zum Lösen nur das doppelte Volum Wasser hinzuzufügen. Das ausserordentlich schön krystallisirbare Katzenhäoglobin kann nach Abderhalden nur aus mit dem gleichen Volum Wasser verdünntem Blutkörperchenbrei krystallisirt erhalten werden. Aehnliche Beobachtungen hatte vorher am Katzenblood schon Fr. Krüger (91) gemacht, dem es bei Verdünnung mit dem doppelten Volum nur einmal gelang, Krystalle zu erhalten. Nach den Angaben von Gscheideln (92) lässt sich die Krystallisationsfähigkeit des Oxyhäoglobins wesentlich erhöhen dadurch, dass man das Blut zunächst kurzer Fäulniss im Brutofen unterwirft.

Dialysationsverfahren. Dem Hoppe-Seyler'schen Verfahren, sowie all seinen Modificationen haftet die Schwierigkeit an, dass man bei niedriger Temperatur arbeiten muss. Es ist mehrfach das Bestreben zu Tage getreten, diese Schwierigkeit zu umgehen. Hier sind zunächst einige Versuche zu nennen, durch Dialyse gegen verdünnten Alkohol Häoglobinkrystalle zu gewinnen. Derartige Versuche sind unabhängig von einander fast gleichzeitig von H. Frey (93), der nach Angaben von Gürber arbeitete, und von Maurice Arthus (94) angestellt worden. Frey füllt durch Centrifugiren aus defibrinirtem Blut gewonnenen Blutkörperchenbrei in den Dialysenschlauch und dialysirte gegen 30—70-proc. Alkohol. Er erhielt dann nach 3—24 Stunden schön ausgebildete mikroskopische Krystalle von Oxyhäoglobin, und zwar aus dem Blute von Pferd, Ochs, Schwein, Hund. Das Pferdehäoglobin krystallisirte auch hier am leichtesten. Arthus benutzte Blutkörperchenbrei aus Blut, das durch Zusatz von 1 Proc. Ammonoxalat ungerinnbar gemacht war. Er löste denselben durch Zusatz von 2 Vol. Wasser und dialysirte gegen Alkohol von 17—33 Proc. Das Verfahren wurde beim Pferde- und Hundeblood geprüft; er erhielt verschiedene Mengen grosser Häoglobinkrystalle, die bei Pferdeblood eine Grösse von 7—8 mm erreichten. Weder Frey noch Arthus haben die durch Dialyse erhaltenen Krystalle

90) E. Abderhalden, Die Bestimmung des Häoglobingehaltes im Katzenblood. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 24, 1898, S. 545—547.

91) Fr. Krüger, Beiträge zur Kenntniss des venösen und arteriellen Blutes. a) Zeitschr. f. Biologie, Bd. 26, 1890, S. 469; b) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 25, 1898, S. 256—257.

92) Gscheideln, Einfache Methode, Blutkrystalle zu erzeugen. Pflüger's Archiv, Bd. 16, 1878, S. 421—423.

93) Hermann Frey, Beiträge zur Kenntniss der Blutkrystalle. Inaug.-Diss. Würzburg, 1894, 20 SS., 2 Tafeln.

94) Maurice Arthus, Verfahren, welches gestattet, leicht und schnell Krystalle von Oxyhäoglobin zu erhalten. a) Compt. rend. Soc. biolog., T. 47, 1895, p. 686. — b) Préparation des cristaux d'oxyhéoglobin, Zeitschr. f. Biologie, Bd. 34, 1896, S. 444—446.

umkrystallisirt, und dadurch analysenrein gemacht. Nach den Untersuchungen von Frey erleiden diese Oxyhämoglobinkrystalle bald grosse Veränderungen, indem sie sich wieder lösen und in anderer Form wieder ausscheiden; auch farblose Krystalle, deren Eiweissnatur übrigens von Frey nicht erwiesen ist, gelangen zur Beobachtung. Die von Arthus erhaltenen grossen Hämoglobinkrystalle dürften krystallographisches Interesse haben. Im übrigen hat das Dialysationsverfahren vorläufig wohl nur den Werth, in leichter Weise, ohne Anwendung niederer Temperatur, Demonstrationskrystalle zu schaffen. Dieser Zweck lässt sich übrigens, wie wir sehen werden, in anderer Weise noch leichter erreichen.

Das Dialysationsverfahren, welches, wie aus dem Vorhergesagten (S. 8) ersichtlich, schon früher von Drechsel zur Darstellung des krystallinischen Eiweisses der Paranuss benutzt worden ist, dürfte, namentlich in Combination mit mässiger Abkühlung, bei genauerer Ausarbeitung gegenüber dem Hoppe-Seyler'schen Verfahren manche Vortheile darbieten.

Ammonsulfatverfahren. Die Methode des Aussalzens, die bei der Verarbeitung des Eieralbumins und Serumalbumins so schöne Früchte gezeitigt hat, lässt sich auch zur Darstellung des Hämoglobins mit Vortheil verwenden. Dittrich (95) war der erste, welcher Versuche in dieser Richtung mittheilt; er löste vom Plasma durch Waschen mit Kochsalz möglichst gereinigten Blutkörperchenbrei durch Zusatz von Aether. Die filtrirte, lackfarbene Lösung wurde mit dem doppelten Volum einer kalt gesättigten Ammonsulfatlösung versetzt, neuerdings filtrirt und in flachen Schalen in der Kälte sich selbst überlassen. Meist konnte bereits nach 24 Stunden der Beginn der Krystallisation beobachtet werden, zuweilen erst nach 2—3 Tagen. Die Krystalle lassen sich mehrmals aus Ammonsulfat umkrystallisiren. Dittrich gibt nicht an, von welchem Thier das verwandte Blut stammt, ich vermuthe jedoch, dass er Hundeblood verwandt hat. Schulz (96) hat dann in ähnlicher Weise aus Pferdeblut Oxyhämoglobinkrystalle in grösseren Mengen darstellen können. Die Lösung des Blutkörperchenbreies wurde nicht durch Schütteln mit Aether, sondern durch Zufügung von 2 Vol. Wasser bewerkstelligt. Bei Zusatz von gleichem Volum concentrirter Ammonsulfatlösung begann schon mit dem ziemlich reichlichen Globulinniederschlag Oxyhämoglobin auszukrystallisiren, so dass die Filtration sehr beschleunigt werden musste, am besten unter Anwendung niederer Temperatur, da

95) P. Dittrich, Ueber methämoglobinbildende Gifte. Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 29, 1891, S. 247—281.

96) Fr. N. Schulz, Der Eiweisskörper des Hämoglobins. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 24, 1898, S. 454.

sich herausstellte, dass gerade umgekehrt, wie bei dem Hoppe-Seyler'schen Verfahren, beim Aussalzen eine höhere Temperatur die Krystallisation begünstigt. Später hat Micko (97) im wesentlichen diese Erfahrungen am Pferdeblut bestätigt. Verfasser hat nachträglich noch mehrfach bei anderen Blutarten das Ammonsulfatverfahren in Anwendung gezogen. Kaninchenhämoglobin krystallisirt leicht unter den gleichen Bedingungen wie Pferdehämoglobin. Ochsenhämoglobin wird wesentlich schwerer durch Ammonsulfat gefällt; es ist mindestens $\frac{2}{3}$ Sättigung erforderlich. Die Abscheidung des Hämoglobins erfolgte stets amorph. Gänsehämoglobin wird ebenfalls schwer durch Ammonsulfat gefällt und krystallisirt höchst unvollkommen. Das durch Aussalzen mit Ammonsulfat hergestellte Oxyhämoglobin geht, wie schon Dittrich beobachtete, allmählich in Methämoglobin über. Die Ammonsulfatmethode besitzt daher nur beschränkten Werth und ist wohl ausser zur Darstellung von Demonstrationskrystallen hauptsächlich zu Untersuchungen über die Spaltungsproducte des Blutfarbstoffs geeignet.

Die im Vorstehenden mitgetheilten Thatsachen beziehen sich im Wesentlichen auf das Oxyhämoglobin. Auch der reducirte Blutfarbstoff, das Hämoglobin im engeren Sinne, sowie das Methämoglobin sind aus verschiedenen Blutarten krystallinisch dargestellt worden, nach Methoden, die sich im wesentlichen mit den für das Oxyhämoglobin beschriebenen decken. Hämoglobin sowie Methämoglobin sind schwerer krystallisirbar als das Oxyhämoglobin; es eignen sich also für die Darstellung ihrer Krystalle besonders die Verfahren, welche für das Oxyhämoglobin schwer krystallisirbarer Blutarten zum Ziele führen.

Da weder methodisch, noch für die allgemeine Chemie der Eiweissstoffe diese Stoffe von besonderer Wichtigkeit sind, so möge ein kurzer Hinweis genügen.

Die erste sichere Darstellung von Hämoglobinkrystallen stammt von Hüfner (98), der dieselben aus zersetztem Menschenblut gewann. Weitere Beobachtungen rühren von Wedl (99), Nencki und Sieber (100), und Donogany (101) her. Angaben über Krystallisation von

97) C. Micko, mitgetheilt bei Krieger (30) und K. Spiro. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 28, 1899, S. 74—191; anderweitig bisher nicht publicirt.

98) G. Hüfner, Ueber krystallisirtes Hämoglobin. Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 4, 1880, Heft 5.

99) C. Wedl, Ueber ein Verfahren zur Darstellung der Hämoglobinkrystalle. Virchow's Archiv, Bd. 80, 1880, S. 172.

100) M. Nencki und N. Sieber, Venöse Hämoglobinkrystalle. Ber. der Deutschen chem. Ges., Bd. 19, 1886, S. 128—130, 410.

101) Z. Donogany, Beiträge zur Lehre der Hämoglobin- und Hämochro-

Methämoglobin finden sich bei H ü f n e r und Otto (102), H ü f n e r (103), J ä d e r h o l m (104), H a l l i b u r t o n (105) und D i t t r i c h (95).

b4. Natur der Hämoglobinkrystalle.

Ueber die Eiweissnatur der Hämoglobinkrystalle hat wohl seit der Entdeckung dieser Gebilde ein Zweifel nicht mehr bestanden; dagegen hat sich in der Anschauung über die Beziehung der Eiweisscomponente zur Farbstoffcomponente ein wesentlicher Wechsel vollzogen. Man war anfangs wohl allgemein der Ansicht, dass ein farbloser Eiweisskörper den krystallinischen Grundstock der Hämoglobinkrystalle darstelle, der einen rothen Farbstoff mechanisch beim Auskrystallisiren mitreisse und einschliesse. Der Hauptvertreter dieser schon von Reichert ausgesprochenen Ansicht war Lehmann (76), der sein Bestreben darauf richtete, die Hämoglobinkrystalle farblos zu erhalten. Lehmann glaubte dieses Ziel auch erreicht zu haben, ist aber hierbei, wie wir jetzt annehmen müssen, einem Irrthum verfallen.

Die chemische Bindung zwischen dem Globin (der Eiweisscomponente) und dem Hämatin (bezw. Hämochromogen) ist eine ausserordentlich lockere, durch minimale Mengen von Säuren oder Alkalien spaltbar. Eine Vorstellung hiervon kann man sich machen, wenn man bedenkt, dass wenige Tropfen verdünnter Salzsäure genügen, um aus mehreren Gramm Blutfarbstoff das Hämatin freizumachen. Diese leichte Spaltbarkeit, die Hoppe-Seyler zu der Annahme veranlasste, dass die Bindung des Hämochromogens eine esterartige sei, war der Hauptgrund für die alte Auffassung der Hämoglobinkrystalle. Dazu kommt noch, dass man aus Hämoglobinkrystallen, unter völliger Erhaltung der Form, den Farbstoff ausziehen kann, indem man die Krystalle erst durch Einwirkung von Alkohol unlöslich macht, coagulirt und dann mit schwach saurem Alkohol eine Abspaltung und Lösung von Hämatin erzielt. Die zurückbleibenden entfärbten Gebilde sind trotz Erhaltung der Form jedoch keine Krystalle mehr, sondern nur Pseudomorphosen, die ein ganz anderes physikalisches Verhalten angenommen haben und, da sie nur mehr in differenten Mitteln löslich sind, allen Versuchen des Umkrystallisirens widerstehen.

mogenkrystalle. Maly's Jahresbericht, 1893, S. 126 (auch Methämoglobin erwähnt). Lesenswerthes Referat!

102) G. H ü f n e r und J. O t t o, Ueber krystallinisches Methämoglobin. Ztschr. f. physiol. Chem., Bd. 7, 1882, S. 65—70.

103) G. H ü f n e r, Ueber krystallinisches Methämoglobin vom Hund. Ztschr. f. physiol. Chem., Bd. 8, 1884, S. 366.

104) A. J ä d e r h o l m, Studien über Methämoglobin. Zeitschr. f. Biol., Bd. 20, 1884, S. 419—448.

105) H a l l i b u r t o n, Ueber Hämoglobinkrystalle der Nager. Journ. of Physiol., Vol. 7, 1886, p. 2—4.

Die heutige Auffassung von der Natur der Hämoglobinkrystalle, welche zugleich die Erklärung der früheren irrigen Ansicht gibt, ist namentlich von Hoppe-Seyler zu allgemeiner Anerkennung gebracht worden. Hoppe-Seyler gründete seine Ansicht einmal auf das Studium der chemischen Vorgänge bei der Abtrennung des Farbstoffes von dem Eiweiss, sodann aber hauptsächlich auf die Constanz im Farbstoffgehalte des Hämoglobins. Gerade der letztere Punkt muss uns hier besonders interessiren. Da das Eisen des Hämoglobins ausschliesslich im Hämatin enthalten ist, so ergibt sich aus der grossen Constanz des Eisengehaltes, auch bei vielfachem Umkrystallisiren, dass die Hämoglobinkrystalle derselben Blutart immer dieselbe Menge Hämatin enthalten. Da die Hämochromogengruppe, wie aus dem Verhalten des Spectrums hervorgeht, auch bei der chemischen Bindung des Sauerstoffs, Kohlenoxyds und anderer Gase der wirksame Theil des Hämoglobins ist, so ist die constante Grösse dieser Bindungsfähigkeit ein weiterer Beweis für die Constanz des Hämochromogengehaltes der Hämoglobinkrystalle. Als Beispiel möge dienen, dass nach Hüfner (106) 1 g Hämoglobin 1,202 ccm O bindet, während nach Beobachtungen von Marshall (107) 1,205 ccm CO unter den gleichen Bedingungen chemisch gebunden werden. Die genaue Uebereinstimmung dieser von einander unabhängigen Zahlen ist ein schlagender Beweis für die Einheitlichkeit des krystallisirten Hämoglobins.

Als weiteren Beweis dafür, dass das Hämochromogen in dem Hämoglobin nicht mechanisch durch Imbition festgehalten wird, kann ich eine eigene Beobachtung anführen. Oxyhämoglobin und Serumalbumin des Pferdeblutes zeigen gegenüber dem Ammonsulfat, wie schon geschildert, ganz ähnliche Krystallisationsverhältnisse. Verwendet man ein Serum, das aus irgend einem Grunde einen stärkeren Gehalt an Oxyhämoglobin aufweist, so kann man Serumalbuminkrystalle und Hämoglobinkrystalle neben einander erhalten. Sie unterscheiden sich, abgesehen von ihrer Form, durch ihre Färbung von einander; die Serumalbuminkrystalle sind glänzend hell, die Hämoglobinkrystalle schön roth. Würde es sich um ein rein mechanisches Mitreissen von Hämochromogen handeln, so müssten auch die Serumalbuminkrystalle gefärbt erscheinen; auch in einem Präparate, welches ich jetzt über 3 Jahre aufbewahre, ist der Farbunterschied der durch ihre Form gekennzeichneten Krystalle noch in ursprünglicher Schärfe sichtbar. Dasselbe Argument hat Molisch, wie (S. 19) erwähnt, als Beweis für die Einheitlichkeit des Phycoerythrins benutzt.

106) G. Hüfner, Untersuchungen zur physikalischen Chemie des Blutes. Journ. f. pract. Chem., N. F. Bd. 22, 1880, S. 362—388.

107) Marshall, Bestimmung des Molekulargewichts von Hundehämoglobin etc. Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 7, 1884, S. 81—92.

Ein Versuch Struve's (108) [1884], die alte Lehmann'sche Anschauung, welche Struve jedoch anscheinend nicht kannte, gegenüber der Hoppe-Seyler'schen zur Geltung zu bringen, hat unsere heutige Anschauung nicht zu erschüttern vermocht. Struve führt keine wesentlich anderen Gründe für seine Anschauung an, als die längst widerlegten.

Struve hat als Chemiker seinen Hauptanstoß an der ausserordentlichen Grösse des Hämoglobinmoleküls genommen, welche die Hoppe-Seyler'sche Anschauung folgern lässt.

c) Insektenblutkrystalle.

Im Anschluss hieran sei noch eine ältere Beobachtung über eigenthümliche Krystalle mitgetheilt, die aus dem Blute von Insekten (besonders Raupen) erhalten werden können.

H. Landois (109) veröffentlichte 1864 eine Arbeit über das Blut der Insekten, die auffallender Weise keine Berücksichtigung gefunden hat. Aus dem Blute der verschiedensten Insecten (Raupen, Puppen, Käfer, Wespen) konnten entweder durch einfaches Eindunsten oder durch Eindunsten nach vorherigem Verdünnen mit Wasser, eventuell unter geringem Zusatz von Alkohol prächtige Krystalle erhalten werden. Landois hielt dieselben für organischer Natur und sprach die Vermuthung aus, dass es sich um Krystalle einer Globulinsubstanz handle, die zum kleineren Theil aus den Blutkörperchen, der Hauptmasse nach aber aus dem Serum stammten. Die Angaben sind zu einer Zeit gemacht, da die Technik einer derartigen Untersuchung noch wenig ausgebildet war. Mikrochemische Eiweissreactionen sind zum Beispiel mit den Krystallen nicht angestellt, abgesehen von einer beobachteten Gelbfärbung durch Salpetersäure. Andererseits war Landois noch in der damals durch Lehmann verbreiteten Ansicht befangen, dass das Hämoglobin ein farbloser, krystallisirender Eiweisskörper sei, dessen Färbung als Verunreinigung aufzufassen sei (s. vorher). Landois glaubte daher, aus dem farblosen Blute der Insekten dieses farblose Hämoglobin erhalten zu haben.

Ich habe die Landois'schen Versuche im Frühjahr und Sommer 1900 nachgemacht und in der That Krystallbildungen erhalten, die mit den zahlreichen von Landois gegebenen Abbildungen übereinstimmen. Ich habe constatiren können, dass ein grosser Theil der Krystalle sicher nicht Eiweiss ist. Es bilden sich grosse Krystalle von Calciumphosphat. Harnsäurekrystalle, zum Theil sicher aus verletzten Malpighi'schen

108) H. Struve, Studien über das Blut. Journ. f. prakt. Chem., N. F. Bd. 29, 1884, S. 304—350.

109) H. Landois, Beobachtungen über das Blut der Insekten. Zeitschr. f. wissensch. Zool., Bd. 14, 1864, S. 55—70 (3 Tafeln).

Gefässen stammend, sind häufig. Ausserdem konnte ich Krystalle einer organischen Substanz in verhältnissmässig reichlichen Mengen erhalten, die im mikroskopischen Bilde dem Tyrosin zum Verwechselln ähnlich waren, aber weder mikrochemisch noch makrochemisch die bekannten Tyrosinreactionen (Millon, Piria) gaben. Auch mit keinem anderen der für gewöhnlich aus dem Thierkörper isolirbaren organischen Extractivstoffe waren dieselben identificirbar. Dieselben gaben keine der gewöhnlichen Eiweissreactionen, waren auch nicht mit Alkohol coagulirbar. Einen Theil der von Landois gegebenen Abbildungen halte ich für Antrocknungsfiguren.

Nach den in der vorstehenden Zusammenstellung mitgetheilten Beobachtungen ist es durchaus möglich, dass unter den von Landois beobachteten Krystallbildungen auch Krystalle einer Eiweissart sich befunden haben. Ein Beweis hierfür ist aber bisher nicht erbracht.

Eine hierher gehörige, von Schimper (3) mitgetheilte Beobachtung von Solms-Laubach, der im Blute einer Seidenraupe zahlreiche farblose Krystalloide fand, die Schimper für Proteinkrystalloide hielt, ist zu kurz mitgetheilt, um zu besonderen Schlüssen zu berechnigen.

E. Krystallographische Angaben über die Eiweisskrystalle.

Das krystallographische Verhalten der Eiweisskrystalle bietet für die chemische Untersuchung zweifaches Interesse, einmal insofern es uns über das Wesen der Krystallisation von Eiweissstoffen unterrichtet, sodann aber als Unterscheidungs- und Trennungsmittel der verschiedenen Eiweissarten. Wohl alle Beobachtungen über das Vorkommen von Eiweisskrystallen enthalten kurze Angaben über die mikroskopische Form der jeweiligen Krystalle, um so spärlicher sind genauere Daten und wirkliche Messungen. Es will mir scheinen, als ob bei der biologischen Bedeutung der Eiweissstoffe eine genauere krystallographische Untersuchung eine dankenswerthe Aufgabe sei. Die bisher gewonnenen Ergebnisse sollen hier nur insoweit Berücksichtigung finden, als sie zur Beantwortung der beiden eben erwähnten Fragen von Bedeutung sind.

Alle Untersucher, die als Krystallographen die Eiweisskrystalloide betrachtet haben [z. B. V. v. Lang (79), Schimper (3), Maillard (110), Wichmann (41)], stimmen darin überein, dass die Krystalloide ihrem optischen Verhalten nach echte Krystalle sind.

110) M. L. Maillard, La cristallisation des matières albuminoïdes et les cristaux protéiques de la micrographie. *Revue générale des Sciences pures et appliquées*, 1898, No. 15, p. 608—614. Ist eine beachtenswerthe Zusammenstellung der einschlägigen Litteratur.

Der einzige wichtige Unterschied gegenüber den gewöhnlichen Krystallen besteht in der Quellbarkeit der Krystalloide, verbunden mit Veränderungen der Krystallform. Diese Formveränderung durch Quellung ist jedoch keine isolirte Erscheinung. Analoge Vorgänge können sich bei der Ausdehnung echter Krystalle durch Erwärmung vollziehen. So ist z. B. die Erwärmung von Boraxkrystallen von beträchtlichen Veränderungen der Form, begleitet (Maillard). Ich halte den von Maillard aufgestellten Satz für richtig: „Parler de cristoalloïdes protéiques serait alors un pléonasma: ils sont cristoalloïdes parce qu'ils sont albuminoïdes.“ Die Unterschiede zwischen Krystalloiden und Krystallen sind darauf zurückzuführen, dass die Krystalloide Krystalle von Eiweisskörpern sind.

Die Krystalloide verschiedener Herkunft unterscheiden sich nicht nur durch das mikroskopische Aussehen von einander, sondern bieten auch krystallographische Verschiedenheiten. Es sind Krystalle beobachtet im regulären, im rhombischen und im hexagonalen System. Alle drei Formen sind vertreten unter den Pflanzenkrystalloiden [Schimper (3)]. Die Blutfarbstoffkrystalle gehören alle entweder zum rhombischen oder zum hexagonalen System. Die ursprünglich für regulär gehaltenen Krystalle des Meerschweinchenhämoglobins haben sich bei genauerer Untersuchung [v. Lang (79)] als zum rhombischen System gehörig herausgestellt. Ins hexagonale System gehören die Krystalle des Eichhörnchenblutes.

In der 3. Auflage von Hoppe-Seyler's Handbuch der Analyse findet sich die Angabe, das Hämoglobin des Truthahns krystallisire in regulären Würfeln. In der neuesten Auflage findet sich diese Angabe nicht mehr vor.

Die Eiweisskrystalle sind mit Ausnahme der zum Theil ins reguläre System gehörigen Pflanzenkrystalloide (z. B. Edestin) gegenüber dem polarisirten Licht doppelbrechend, soweit die Grösse derselben für eine Untersuchung im polarisirten Licht ausreicht. Für die übrigen thierischen Eiweisskrystalle ist nirgends mit Sicherheit das Krystallsystem bestimmt. Die Krystalle des Mehlwurmdarms dürften hexagonal sein, ebenso gehören die Krystalle des Pferdeserums voraussichtlich zum hexagonalen System [Wichmann (41)]. Bondzynski und Zoja (37) erhielten bei der Darstellung von krystallinischem Eieralbumin Täfelchen, die nach Artini dem monoklinischen oder triklinischen System angehören. Wichmann hat dagegen die von Artini untersuchten Formen nicht beobachten können. Diese bisher sehr spärlichen krystallographischen Angaben dürften wohl eine Erweiterung erfahren, sobald es gelingt, nach den modernen Methoden grössere und schöner ausgebildete Eiweisskrystalle zu erhalten.

F. Bedeutung der Eiweisskrystalle für die Eiweisschemie.

Wenn es nach dem vorher Gesagten wohl kaum einem Zweifel unterliegt, dass wir es in den Eiweisskrystalloiden mit echten Krystallen zu thun haben, so haben wir uns doch noch mit der zweiten oben (S. 33) aufgestellten Frage zu beschäftigen, inwiefern die Krystallisation des Eiweisses als Reinigungsprocess als Unterscheidungs- und Trennungsmittel der verschiedenen Eiweissarten benutzt werden kann. Einen besonderen Werth für das Studium der chemischen Natur hat die Darstellung von krystallinischen Eiweiss nur dann, wenn sie gestattet, chemisch einheitliche Körper zu gewinnen. Solange genaue krystallographische Messungen nicht ausführbar sind, müssen andere Kriterien zu Hülfe genommen werden. Da die physikalischen Constanten der Eiweissstoffe (Coagulationstemperatur, optische Activität etc.) aus den verschiedensten Gründen zur genauen Charakterisirung der Eiweissstoffe ungenügend sind, so bleibt als wesentlichster Prüfstein für die Einheitlichkeit die constante Zusammensetzung.

Die Krystallisationsverhältnisse an und für sich bieten keine genügende Handhabe zur Unterscheidung, so dass z. B. Wichmann (41) zu dem Schlusse kommt, „dass die verschiedenen krystallisirbaren Albumine (Serum-, Eier-, Laktalbumin), wenn auch nicht geradezu identisch, so doch jedenfalls unter einander isomorph sind“.

Zieht man die elementare Zusammensetzung dieser verschiedenen Albumine in Betracht, so ergibt sich, dass so grosse Verschiedenheiten obwalten, dass von einer Identität keine Rede sein kann.

Die Grösse des Eiweissmoleküls macht die für die meisten Krystalle leicht zu beantwortende Frage nach der Constanz der Zusammensetzung zu einer schwierigen und verwickelten.

Es soll hier an den wichtigsten Vertretern der krystallinischen Eiweissstoffe diese Frage erörtert werden.

a) Pflanzenkrystalloide.

Verhältnissmässig am einfachsten ist dieselbe für die Pflanzenkrystalloide zu beantworten. Osborne (15b), der hier wohl die grösste Erfahrung hat, hält auf Grund zahlreicher Analysen nicht nur die einzelnen Präparate (z. B. das Edestin des Hanfsamens) für constant zusammengesetzt, sondern erklärt auch die krystallisirenden Globuline aus Hanf-, Ricinus-, Kürbis-, Flachssamen für identisch wegen ihrer gleichen elementaren Zusammensetzung. Obschon diese Krystalloide mit Leichtigkeit krystallisiren, scheinen doch je nach der Darstellungsart Differenzen vorzukommen. Osborne's Analysen weisen dem Edestin des Hanfsamens 18,84 Proc. Stickstoff zu. Hausmann (27c) fand in Uebereinstimmung hiermit 18,53 Proc. Stickstoff.

Leipziger (27 b) dagegen fand in 4 verschiedenen Darstellungen für den Stickstoffgehalt des Edestins Zahlen, die von dem Mittelwerthe 16,41 nur um 0,04 Proc. differirten. Wir werden ähnlichen Differenzen auch bei der Besprechung anderer Eiweisskrystalle kennen lernen. Das Edestin des Hanfsamens hat nach Osborne die Zusammensetzung:

C 51,28 H 6,84 N 18,84 S 0,87 O 22,17.

b) Oxyhämoglobin (Pferd).

Von den verschiedenen krystallisirten Oxyhämoglobinen ist am häufigsten analysirt das Pferdeoxyhämoglobin. Die von 5 verschiedenen Untersuchern [Hoppe-Seyler (111), Hüfner (112), Otto (113), Nencki (114), Schulz (96)] herrührenden Analysenzahlen zeigen eine für Eiweiss sehr gute Uebereinstimmung:

C 54,40—54,87 H 6,97—7,20 N 17,06—17,61 S 0,43—0,67

Fe 0,45—0,47 O 19,67—19,86.

Dagegen hatte von Zinoffsky (85) dargestelltes Pferdeoxyhämoglobin eine wesentlich andere Zusammensetzung:

C 51,15 H 6,76 N 17,94 S 0,3899 Fe 0,335 O 23,421.

Die von Zinoffsky analysirten Präparate waren mit der grössten Sorgfalt hergestellt; die Darstellungsweise wich von der sonst (s. S. 25) üblichen insofern ab, als Zinoffsky ein Entfernen des den Blutkörperchen anhaftenden Serums als überflüssig unterliess (s. vorher!). Wahrscheinlich ist hierin die Ursache der abweichenden Ergebnisse zu suchen. Zinoffsky überzeugte sich zwar, dass nach zweimaligem Umkrystallisiren die Mutterlauge eine Substanz von gleicher Zusammensetzung wie die abgeschiedenen Krystalle enthielt, dass also durch weiteres Umkrystallisiren keine Aenderung in der Zusammensetzung hätte hervorgerufen werden können; es handelt sich also nicht um einfaches Anhaften eines verunreinigenden Bestandtheils des Serums. Trotzdem ist die Abweichung Zinoffsky's nicht durch eine grössere Genauigkeit in den Arbeitsmethoden bedingt, sondern die von den anderen Untersuchern analysirten Krystalle besaßen eben eine andere Zusammensetzung.

c) Serumalbumin (Pferd).

Die Angaben Gürber's (84) und Michels' (85), welche zuerst die Serumalbuminkrystalle beschrieben, waren geeignet, Zweifel zu er-

111) Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 1, 1877, S. 121.

112) Hüfner, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 8, 1884, S. 358.

113) Otto, Pflüger's Archiv, Bd. 31, 1883, S. 240.

114) W. Nencki, Arch. f. experim. Path. u. Pharm., Bd. 20, S. 332.

wecken an der Brauchbarkeit dieser Krystallisationserscheinung zur Reindarstellung eines chemischen Individuums. Dieselben beschrieben 4 verschiedene Arten von Serumalbuminkrystallen, die sie durch fractionirte Ausfällung mit Ammonsulfat erhalten konnten. Dieselben unterschieden sich durch ihr verschiedenes Aussehen im mikroskopischen Bilde. Die Fractionen 1, 3 und 4 lassen sich, wie **Wichmann** (41) angibt und wie ich mich schon früher in nicht publicirten Beobachtungen überzeuge, von derselben Grundform ableiten. Sie lassen sich durch Umkrystallisiren in einander überführen, wie ich beobachtete, und wie auch **Krieger** mittheilt. Fraction 1 stellt die regelrecht ausgebildeten Krystalle dar, sechsseitige Prismen mit einseitig aufgesetzter Pyramide; häufige Zwillingsbildung. Fraction 3 besteht aus langen Nadeln, die bei starker Vergrößerung sich als lang ausgezogene Krystalle vom selben Bau wie Fraction 1 erweisen. Fraction 4 bildet die so häufig bei mangelhaften Krystallisationen zu beobachtenden büschelförmigen Nadeln.

Die von **Gürber** und **Michels** beschriebene Fraction 2, rechtwinklige Tafeln, gelangt nur selten zur Beobachtung. Ich habe dieselbe lange Zeit stets vermisst. Ich erhielt dieselben zuerst aus einem stärker mit Hämoglobin verunreinigten Serum und habe mich überzeugt, dass es sich um Oxyhämoglobin handelt. Das Oxyhämoglobin des Pferdes krystallisirt aus verdünnter Lösung in sehr dünnen und daher nur leicht gelb gefärbten Tafeln. Durch künstlichen Zusatz von wenig Oxyhämoglobin zu Serum erhielt ich stets neben Serumalbuminkrystallen die den von **Michels** gegebenen Abbildungen der Fraction 2 entsprechenden Tafeln.

In betreff der elementaren Zusammensetzung der Serumalbuminkrystalle, die, falls das Serum nicht durch Oxyhämoglobin verunreinigt war, trotz der verschiedenartigen Form, in der sie auftreten können, doch einen einheitlichen Körper erhoffen lassen, herrscht eine erfreuliche Uebereinstimmung.

Gürber u. Michels (45) fanden	C 53,08	H 7,1	N 15,93	S 1,9
	53,04	7,1	15,71	1,86
Schulz (37) fand	C 52,95	H 6,96		S 1,94
Middeldorf (47) fand				S 1,88

d) Eieralbumin (Huhn).

Obschon das Eieralbumin bei geeignetem Vorgehen prächtig krystallisirt, bestehen in den Angaben über die elementare Zusammensetzung erhebliche Differenzen. Die verschiedenen Ergebnisse seien in folgender Tabelle zusammengestellt:

C	H	N	S	
53,36 u. 53,21	7,31 u. 7,21	15,06	1,01 u. 1,18	Hofmeister (28b)
			1,24 u. 1,27	Schulz (37)
52,44 — 52,07	7,26—6,95	15,58—15,11	1,614—1,7	Bondzynski u. Zoja (37)
52,26	7,4	15,19	1,23	Schulz (31) ¹⁾
52,57	6,94	15,68	1,609	Osborne (32) ²⁾
52,75	7,12	15,43	1,57	Hopkins (41) ³⁾
52,75	7,10	15,51	1,62	Osborne u. Campbell(42) ⁴⁾

Ueber die Ursache der aus der Tabelle ersichtlichen erheblichen Differenzen, die namentlich beim Schwefel auffallend werden, ist bisher keine Aufklärung geschaffen. Jeder Untersucher wird für sich überzeugt sein, dass er an rein krystallinischen Präparaten nach genauen Methoden sorgfältige Analysen ausgeführt hat. Ich habe in der letzten Zeit mehrfach den Schwefelgehalt schön krystallinischer Eiweisspräparate bestimmt und von meinen Schülern bestimmen lassen. Wir sind immer zu den gleichen Werthen gelangt, wie sie früher Hofmeister und Verf. ermittelt hatten. Ich hege daher keinen Zweifel, dass unseren Präparaten thatsächlich dieser niedrige Schwefelgehalt zukommt. Dass in dem Eiereiweiss wesentlich schwefelreichere Eiweissstoffe vorkommen, geht schon daraus hervor, dass das ungereinigte Eiweiss einen wesentlich höheren Schwefelgehalt aufweist.

Wir sehen auch hier die beim Edestin und Oxyhämoglobin beobachtete Thatsache, dass die Krystallisationsmethoden in den Händen verschiedener Untersucher zu Präparaten von verschiedener Zusammensetzung führen können. Es ist dies wiederum ein Beweis von der Empfindlichkeit und Labilität der Eiweissstoffe. Durch dieses Verhalten wird der Werth der Krystallisationsfähigkeit der Eiweissstoffe zwar eingeschränkt, aber immerhin bietet uns dieselbe ein Mittel zur Reinigung, das bei Studien über die Natur der Eiweissstoffe keinesfalls zu verachten ist.

Ich möchte noch auf eine Möglichkeit hinweisen, die die verschiedene Zusammensetzung erklären könnte, dass nämlich nicht in der Darstellungsmethode, sondern in dem Versuchsmaterial der Grund für die Verschiedenheit zu suchen ist. Rassen- und Artunterschiede könnten sich auch in der Zusammensetzung der specifischen Eiweissstoffe äussern.

-
- 1) Unter Schwefelsäurezusatz krystallisirt.
 - 2) Mit Salzsäure krystallisirt.
 - 3) Mit Essigsäure krystallisirt.
 - 4) Osborne und Campbell fanden für nach dem Säureverfahren und nach dem alten Hofmeister'schen Verfahren dargestellte Präparate die gleiche Zusammensetzung.

G. Bedeutung der Krystallisationsfähigkeit.

Im Vorstehenden sind eine ganze Reihe von krystallisirenden Eiweisskörpern aufgezählt; wie kommt es, dass die überwiegende Mehrzahl der Eiweissstoffe bisher nicht in krystallisirtem Zustande erhalten wurde? Liegt dies an einer Unvollkommenheit der Methode, oder bestehen hier principielle Unterschiede? Zur Beantwortung dieser Frage ist es vielleicht am besten, zunächst zu untersuchen, warum einzelne Eiweisskörper krystallisiren. Die Veranlassung zur Krystallisation ist in den beschriebenen Fällen die Entziehung der Lösungsbedingungen. Diese Entziehung ist keine allmähliche; es geht der krystallinischen Abscheidung immer eine wesentliche Uebersättigung voraus. Die Abscheidung erfolgt ziemlich plötzlich und in viel reichlicheren Mengen, als sie der Entziehung der Lösungsbedingung, die zur Abscheidung geführt hat, entspricht.

Bei der Darstellung des krystallinischen Eialbumins nach der Ammonsulfatmethode können z. B. wenige Tropfen concentrirter Ammonsulfatlösung genügen, um die schliessliche Ausfällung des krystallisirenden Bestandtheils aus mehreren 100 ccm einer Lösung zu bewirken, die ohne Zusatz dieser wenigen Tropfen dauernd klar geblieben wäre. Durch diese minimale Concentrationserhöhung werden nicht nur Spuren von Eiweiss zur Krystallisation gebracht, sondern grosse Mengen. Namentlich beim Umkrystallisiren zeigt es sich, dass durch den geringen Mehrgehalt an Salz der krystallisirende Bestandtheil fast quantitativ aus seiner Lösung entfernt wird. Auf diesen Umstand ist es auch zurückzuführen, dass es nicht gelingt durch allmähliches Erhöhen der Concentration grosse Krystalle zu züchten, denn trotz aller Vorsicht erfolgt die Krystallisation plötzlich.

Es besteht hier ein eklatanter Unterschied gegenüber den meisten anderen Krystallisationen, bei denen, falls die Krystallisation einmal begonnen hat, die Krystallabscheidung bis zu einem gewissen Grade proportional der Entziehung der Lösungsbedingungen ist. Es ist hierin übrigens die Krystallisation von Eiweiss, anderen amorphen Ausfällungen von Eiweiss analog. Die Annahme, dass das gelöste Eiweiss von dem ausgeschiedenen verschieden sei, liegt nahe und hat in der That auch Gabriel (36) zu der Annahme geführt, dass die Krystallisation mit einer Depolymerisation, also einer Verkleinerung des Moleküls verknüpft sei. Da eine principielle Unterscheidung zwischen amorpher und krystallinischer Abscheidung in dieser Hinsicht nicht gerechtfertigt ist, kann auch die Annahme einer Depolymerisation nicht zur Erklärung der Thatsache benutzt werden, dass einzelne Eiweisskörper krystallisirt erhalten werden können nach Methoden, die bei anderen völlig versagen.

Hofmeister hat die Ursache der Krystallisation in einer fortschreitenden Reinigung erblicken zu können geglaubt. Als Hauptstütze seiner Annahme konnte er anführen den allmählichen Uebergang der Globulithen in schön ausgeprägte Krystallnadeln. Die ausgezeichnete Krystallisationsfähigkeit des Hämoglobins, eines von anderen Eiweisskörpern leicht trennbaren Stoffes, fand hierdurch ebenfalls eine Erklärung. Auch die Beobachtung des krystallisirenden Harnoglobulins, das anscheinend von anderen Eiweissstoffen von vorn herein getrennt war (S. 15), dürfte hierher gehören. Es unterliegt wohl keiner Frage, dass mit der Krystallisation, z. B. von Eieralbumin, eine Reinigung verbunden ist, und dass die Abtrennung fremder, nicht krystallisirender Bestandtheile die Ursache dafür ist, dass bei fortgesetztem Umkrystallisiren die Niederschläge schöner krystallinisch werden. Die fortschreitende Reinigung ist aber nicht die Ursache für die Bildung der Krystalle, sondern diese ist in specifischen Verhältnissen des krystallisirenden Eiweisskörpers gegeben. Dies geht einmal daraus hervor, dass viele Eiweisskörper, trotzdem sie denselben Reinigungsprocessen unterworfen wurden, nicht krystallisirt erhalten werden können; sodann aber geben uns die Beobachtungen über das Fehlen krystallisirender Eiweisskörper an Stellen, wo man sie erwarten sollte, wichtige Aufschlüsse. Schon Gürber (45) hatte beobachtet, dass das Pferdeserum, welches für gewöhnlich prächtig krystallisirt, manchmal trotz aller Bemühungen keine Krystalle liefert. Wenn auch durch das von Krieger angegebene Säureverfahren die Krystallisationsbedingungen wesentlich günstiger gestaltet werden können, so bleibt trotzdem auch jetzt noch der Gürber'sche Satz zu Recht bestehen. Von besonderem Interesse ist es nun, dass man nach Zusatz geringer Mengen eines krystallisationsfähigen Serums zu einem ohne Säure nicht krystallisirbaren eine diesem Zusatz entsprechende Menge von Krystallen erhalten kann. Es geht hieraus hervor, dass in dem nicht krystallisirbaren Serum kein Hinderniss für die Krystallisation besteht, sondern dass demselben der krystallisirende Bestandtheil gefehlt hat. Ganz ähnlichen Verhältnissen, was die Misserfolge anbelangt, begegnet man bei dem Eiereiweiss, nur dass dieselben nicht immer so deutlich zu Tage treten, da die individuellen Verhältnisse durch Verarbeitung einer grösseren Anzahl von Eiern für gewöhnlich ausgeschaltet werden. Eine Erklärung dürfte sich wohl aus einem Vergleich mit der Bedeutung der natürlich vorgebildeten Krystalloide ergeben. Sowohl die pflanzlichen, als auch die thierischen Krystalloide spielen durchweg die Rolle eines Reserve-materials; sie finden sich an Stellen, wo durch lebhaftes Wachsthum, bezw. Zellerneuerung, ein grosser Bedarf an plastischen Material vorhanden ist. Für die Krystalloide des Mehlwurmdarms hat Bieder-

mann nachgewiesen, dass deren Masse in directem Verhältnisse zum Ernährungszustande steht.

Die bisher künstlich krystallisirbaren Eiweisstoffe sind nicht an der Organisation der Zellen betheilt, sondern stehen ausserhalb derselben und harren noch ihrer Verwendung im Lebensprocess; wenigstens gilt dieses für das Eier-, Serum-, Laktalbumin. Gürber bzw. sein Schüler Meyer (46) glaubten in der That Beziehungen zwischen dem Ernährungszustande und der Krystallisationsfähigkeit des Serums gefunden zu haben. Dies sollte sich ausser in dem Fehlen der Krystalle auch in einer Verschiebung des Mengenverhältnisses zwischen Serumglobulin und Serumalbumin documentieren. Diesen Angaben hat Krieger (30) widersprochen, indem er in seinen Versuchen eine derartige Beziehung nicht feststellen konnte. Auch eine Aenderung des Mengenverhältnisses von Globulin und Albumin gelangte nicht zur Beobachtung. Meines Erachtens genügen die vorliegenden Beobachtungen nicht, um eine Beziehung zwischen dem Ernährungszustande und der Krystallisationsfähigkeit des Serums auszuschliessen. Es müsste dabei nicht nur der allgemeine Ernährungszustand, sondern auch der Einfluss der Nahrungsaufnahme berücksichtigt werden. Da das krystallisirende Albumin nur einen kleinen Theil des Gesamtalbumins bildet, braucht auch das Mengenverhältniss zwischen Albumin und Globulin keine wesentliche Aenderung zu erleiden, wenn der krystallisirende Bestandtheil fehlt.

Ich glaube also trotzdem, dass zwischen den künstlich krystallisirbaren Eiweisstoffen und den vorgebildeten Krystalloiden eine Analogie besteht. Dieselben sind vom Organismus specifisch vorbereitet und verdanken dieser Vorbereitung ihre Krystallisationsfähigkeit. Ob diese Vorbereitung als Differenzirung von den übrigen Eiweisstoffen die Abtrennung und damit die Krystallisation erleichtert, oder aber ob durch tiefer greifende Veränderung etwa im Sinne einer Depolymerisation, das zu entscheiden, ist späteren Untersuchungen noch vorbehalten.

Mit diesen Ausführungen soll nicht gesagt sein, dass die anderen Eiweisstoffe, wie man es früher auffasste (S. 1), gerade die Nichtkrystallisirbarkeit als specifische Eigenschaft besässen, sondern nur, dass bei ihnen die Bedingungen ungünstiger liegen, so dass unsere heute üblichen Methoden versagen.

Autorenverzeichniss.

- A.**
Abderhalden 28.
Arthus 28, 29.
Artini 35.
- B.**
Barbieri 5.
Biedermann 6, 41.
Boettcher 24, 25.
Bondzynski 12, 14, 35, 39.
Brandt 7.
Browicz 8, 18.
Budge 23.
Bunge 24.
Byrom-Bramwell 15.
- C.**
Campbell 13, 39.
Chittenden 5.
Cohn, Fr. 19.
Cohn, Th. 7.
Cramer 19.
- D.**
Dittrich 29, 30, 31.
Donogany 30.
Drechsel 5, 9, 14, 17, 29.
Dzierzowski 16.
- E.**
Ebner 7.
Eisig 22.
- F.**
Fremy 6.
Frentzel 6.
Frey 28, 29.
Funke 23, 24.
Fürbringer, P. 7.
- G.**
Gabriel 12, 40.
Gobley 7.
Griesmayer 6, 9.
Groth 7.
Grübler 5.
Gruzevska 14.
Gacheideln 28.
Gürber, 13, 14, 16, 28, 37,
38, 41, 42.
- H.**
Halliburton 31.
Hammarsten 26.
Hansen 19.
Harnack 12.
Hartig 2.
- Hausmann** 9, 36.
Hertwig 7.
His 4.
Hofmeister 10, 11, 12, 39, 41.
Hopkins 11, 12, 13, 39,
35, 37.
Hoppe-Seyler 21, 24—33.
Hüfner 27, 30, 31, 32, 37.
Hünefeld 23.
Huppert 15, 16.
- J.**
Jäderholm 31.
Jaquet 22, 27.
Jolles 15.
- K.**
Klein 19.
Kölliker 23.
Krieger 11, 12, 14, 30, 38,
41, 42.
Krüger 28.
Kühne 25.
Kunde 23.
- L.**
Landois, H. 33, 34.
Lang, V. v. 25, 34, 35.
Langstein 11.
Lehmann 23, 24, 25, 31, 33.
Leipziger 9, 37.
Lenhossek 7.
Levi-Magnus 18.
Leydig 23.
List 6.
Lubarsch 7.
- M.**
Magnus-Levi 16.
Maillard 16, 34, 35.
Maly 18.
Mayet 26, 27.
Marschall 32.
Maaschke 5, 8.
Mendel 5.
Meyer 14, 42.
Micko 30.
Michel 13, 37, 38.
Middeldorf 14.
Mingazzini 6.
Molisch 19, 20, 32.
Moraczewski 16.
Moritz 4.
- N.**
Nägeli 3, 4, 7.
Nencki 30, 37.
- O.**
Otto 31, 37.
Osborne 5, 9, 11, 13, 36,
37, 39.
- P.**
Panormoff 13.
Paton-Noël 15.
Pekelharing 13.
Pfeffer 3, 5.
Pinkus 11, 12, 13.
Preyer 22, 24, 26.
- R.**
Radlkofer 2, 7.
Reichert 23, 31.
Rengel 6.
Ritthausen 5.
Rollet 25.
- S.**
Sebelien 16.
Schimper 3, 4, 5, 8, 19,
34, 35.
Schmiedeberg 5, 8, 9.
Schmidt, A. 27.
Schmidt, C. 24, 25.
Schmidt-Mülheim 17.
Schrötter 17, 18.
Schulz 4, 11, 12, 13, 14,
29, 30, 32, 33, 37, 38, 39.
Sieber 30.
Solms-Laubach 8, 34.
Spiro 30.
Struve 33.
- U.**
Umber 13.
- V.**
Valenciennes 7.
Vines 5.
Voorhes 5.
- W.**
Walther 7.
Wedl 30.
Weyl 5.
Wichmann 13, 14, 16, 34,
35, 36, 38.
Wooldrigde 37.
- Z.**
Zadik 9.
Zoja 12, 14, 15, 35, 39.
Zinoffski 26, 27, 37.



Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

YC 21583



108157

QD431

S4

